

Biochemische Untersuchungen
von Lungengewebsveränderungen
im respiratorischen Versagen
nach hypovolämisch-traumatischem
Schock

Andreas Nerlich



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554825_0049

Aus dem
Max-Planck-Institut für Biochemie
Martinsried
Abt. für Bindegewebforschung
(Direktor: Prof. Dr. Kühn)

Biochemische Untersuchungen von Lungengewebsveränderungen
im respiratorischen Versagen nach hypovolämisch-traumati-
schem Schock

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt

von

Andreas Nerlich

aus

Landshut

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. K. Hannig

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. W. Neupert

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 4. 10. 1984

Inhaltsverzeichnis

1.	Überblick	S. 1
2.	Allgemeiner Teil	3
2.1.	Aufbau und Funktion der Lunge	3
2.1.1.	Morphologie der Lunge	3
2.1.2.	Biochemische Zusammensetzung des Lungengewebes	9
2.1.3.	Funktion der Lunge	15
2.2.	Charakterisierung von Schock und Schocklunge	19
2.2.1.	Entwicklung des Schocksyndroms - historischer Rückblick	19
2.2.2.	Definition und Pathogenese des Schock	24
2.2.3.	Charakterisierung der Schocklunge	26
2.2.4.	Ätiologie und Pathogenese der Schocklunge	27
2.2.5.	Klinisches Bild der Schocklunge	29
2.2.6.	Morphologisches Substrat der Schocklunge	31
3.	Aufgabenstellung	37
4.	Ergebnisse	38
4.1.	Methodische Überprüfungen	38
4.1.1.	Vergleich verschiedener Gewebsentnahmearten	38
4.1.2.	Lungentrockengewichtsmessung	39
4.1.3.	Proteinbestimmungsmethoden	39
4.1.4.	Albuminbestimmungsmethode im Lungengewebe	39
4.2.	Veränderungen zwischen Flüssigkeits- und Gewebs- kompartimenten	44
4.2.1.	Lungenfeucht- und -trockengewicht	44
4.2.2.	Veränderungen von intrapulmonaler Blutmenge, extra- vaskulärem Lungenwasser und extravaskulärer Albumin- menge	46
4.3.	Veränderungen der Gewebszusammensetzung	49
4.3.1.	Protein	49

4.3.2.	DNS und RNS	S. 52
4.3.3.	Kollagen und Elastin	54
4.4.	Charakterisierung des Kollagens bei biochemisch nachgewiesener Kollagenvermehrung	56
4.4.1.	Löslichkeit von Gewebe und Kollagen	56
4.4.2.	Verhältnis von α 1(I)- zu α 2(I)-Kette	56
4.4.3.	Verhältnis von Kollagen Typ I zu III	58
4.4.4.	Aminosäurezusammensetzung des Kollagens	58
4.5.	Immunhistologische Gewebslokalisation von Kollagen Typ I, III und IV	61
5.	Diskussion	65
5.1.	Bedeutung der akuten Lungenfibrose nach Schock und Trauma	65
5.2.	Versuchsansatz und Methodik	67
5.3.	Quantitative Veränderungen der Lungengewebszu- sammensetzung	69
5.4.	Beginn der akuten posttraumatischen Lungen- fibrose	75
5.5.	Molekulare Zusammensetzung und Aufbau des Kollagens	76
5.6.	Hypothesen zur Entstehung der akuten Lungen- fibrose	80
6.	Zusammenfassung	84
7.	Material und Methoden	86
7.1.	Patientengut	86
7.2.	Material	90
7.3.	Methoden	91
7.3.1.	Materialentnahme	91
7.3.2.	Bestimmung des Lungentrockengewichts	92
7.3.3.	Entnahme und Vorbereitung der Proben	92
7.3.4.	Bestimmung von Kollagen- und Gesamtproteinkon- zentration durch Aminosäureanalyse	93

7.3.5.	Bestimmung von Gesamtprotein, DNS und RNS mit kolorimetrischen Verfahren	S. 95
7.3.6.	Bestimmung der Serumalbuminkonzentration	95
7.3.7.	Bestimmung der Hämoglobinkonzentration	97
7.3.8.	Bestimmung des alkaliextrahierbaren Elastin- proteins	97
7.3.9.	Kollagenabbau und Bestimmung der Löslichkeit	97
7.3.10.	Bestimmung des Verhältnisses von Kollagen Typ I/III	99
7.3.11.	Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung des Kollagens in der Lunge	100
7.3.12.	Immunhistologische Untersuchung der Kollagentypen I,III und des Basalmembrankollagens Typ IV	100
7.3.13.	Berechnungen und Statistik	101
8.	Literaturverzeichnis	103
9.	Lebenslauf	

1. Überblick

Der hypovolämisch-traumatische Schock und die in seinem Gefolge auftretenden Komplikationen stellen heute eine der hauptsächlichen Todesursachen dar. In einer Statistik des Freiburger Pathologischen Institutes aus dem Jahr 1976 rangiert der "Schock" hinter arteriosklerotischen Veränderungen und Tumoren auf Platz 3 aller Todesursachen (MITTERMAYER et al., 1977 (97)). In jüngeren Bevölkerungsschichten ist der Anteil an Schockpatienten am Obduktionsgut noch größer.

TRUNKEY et al. (1982 (160)) stellen beispielsweise in den USA "Schock" als führende Todesursache bei der Altersgruppe bis zum 40. Lebensjahr fest. Gleichzeitig nimmt die respiratorische Insuffizienz als posttraumatische Komplikation eine immer führendere Stellung als "lebensbegrenzenden Faktor" innerhalb des Schocksyndroms ein (SANDRITTER et al., 1978 (141)).

Diese wachsende klinische Bedeutung der "Schocklunge", der Wandel innerhalb des Krankheitsbildes, nämlich weg von der akuten respiratorischen Insuffizienz zum protrahierten, chronischen Verlauf läßt das Spätstadium der Schocklunge heute als einen der wichtigsten Problemkreise der Intensivmedizin in den Vordergrund treten (SCHLAG et al., 1982 (145)). Obwohl sich bislang schon eine Reihe von klinischen Studien mit der protrahierten Schocklunge beschäftigt haben (BLAISDELL und LEWIS, 1977 (10); WALKER und EISEMAN, 1975 (165); STURM et al., 1979 (155)) und obwohl dieses Krankheitsbild auch pathologisch-anatomisch bereits eingehend untersucht worden ist (RIEDE et al., 1979 (131); PIETRA et al., 1981 (119)), bleiben zahlreiche Fragen nach Aus-

lösung, Verlauf, Ausmaß und Prognose der Veränderungen im protrahierten, respiratorischen Versagen offen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit einer bislang für dieses Krankheitsbild noch nicht genutzten Methodik die auftretenden Gewebsveränderungen detailliert zu charakterisieren und damit Hinweise für den Krankheitsverlauf und seine Prognose zu erhalten.

2. Allgemeiner Teil

2.1. Aufbau und Funktion der Lunge

2.1.1. Morphologie der Lunge

Anatomisch läßt sich der rechte Lungenflügel in 3, der linke in 2 verschiedene Lungenlappen unterteilen. Diese Einteilung ist bedingt durch die räumlichen, intrathorakalen Verhältnisse, die durch die linksseitige Herzlage dem linken Lungenflügel ein geringeres Volumen zugestehen. Entsprechend sind die Gewichte von linkem und rechtem Lungenflügel - etwa im Verhältnis von 1 : 1.3 (JOACHIM et al., 1978 (62)) - unterschiedlich. Das Lungengewicht, wie aus Tab. 1 ersichtlich Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, zeigt deutlich verschiedene Werte, wobei wohl Faktoren wie Blutfülle, Ödem und Gewebsveränderungen für die großen Streuungen verantwortlich gemacht werden müssen (KOPSCH, 1955 (68)).

Die kleinste anatomisch abgrenzbare Funktionseinheit der Lunge bilden die Lungenläppchen ("Lobuli"), die sich aus je einem Bronchiolus respiratorius, einem Ductus alveolaris und den Sacculi alveolares mit zugehörigem Blut- und Lymphgefäßsystem, Nerven und interstitiellem Bindegewebe zusammensetzen (Abb. 1). Die Zahl der Lobuli wird auf 20000 - 65000 pro Lunge geschätzt (WEIBEL, 1962 (169)). Die kleinste funktionelle Einheit bildet die 0.06 - 0.2 mm im Durchmesser große Alveole, die von 4 - 12 Kapillarmaschen umspunnen wird. In ihr erreichen Luft- und Blutwege ihre stärkste Oberflächenvergrößerung und ihre innigste Zusammenlagerung. Beide Lungenflügel zusammen besitzen ca. 300 - 400 Millionen Alveolen, deren Gesamtoberfläche bei Inspiration in ruhiger Atmung etwa $55 - 80 \text{ m}^2$ beträgt (BARGMANN, 1977 (4)).

Tabelle 1

Lungenfrischgewichte in der Literatur

Autor		n	Gewicht (g)
Bischoff (8),	1863	2	674 - 791
Hollstein (58),	1873	16	871
Spitzka (151),	1904	5	543
Rössle (138),	1932	70	797
Reid (127),	1939	50	960 - 1350
Hoffmann (57),	1939	37	871 - 1193
Magus-Levy (83),	1940	1	1000
Pierce (116),	1961	9	1050
Stowens (154),	1966	1	693
Warwick (166),	1973	1	1192
Staub (152),	1974	+	672
Whimster (174),	1974	77	857
Zschoch (177),	1975	200	380 - 800
Sandritter (140),	1975	+	800
Joachim (62),	1978	6	438
Zapol (176),	1979	9	748
Pratt (125),	1981	+	500

+ = nicht angegeben



Abb. 1

Schematische Darstellung eines Lungenlobulus

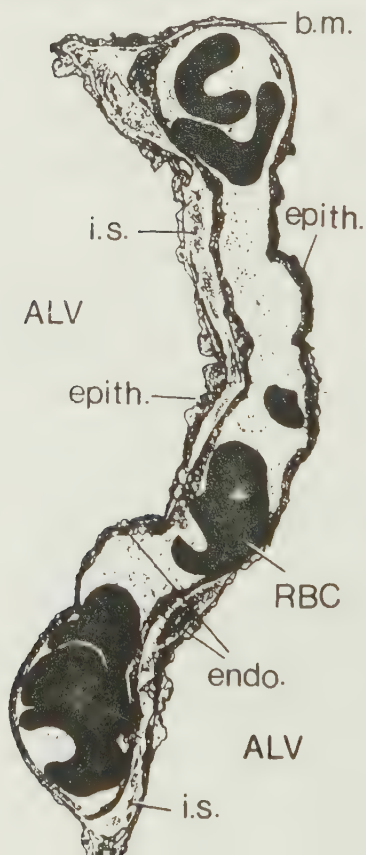
1 = Bronchiolus respiratorius; 2 = Ductus alveolaris;

3 = Alveolarlumen; 4 = Interalveolarseptum

Das Interalveolarseptum trennt die lufthaltigen Alveolen voneinander. An seiner Oberfläche sitzen flache Pneumozyten Typ I und kubische Pneumozyten Typ II der Basalmembran auf. Die Pneumozyten Typ I sind flache, weit ausgezogene Zellen mit zahlreichen Pinozytosevesikeln, die durch "dichte" Zonulae occludentes miteinander verbunden sind. Pneumozyten Typ I sind als postmitotische Zellen ohne Möglichkeit zur Zellteilung anzusehen (WEIBEL, 1974 (172)). Die granulären Pneumozyten Typ II sind durch einen Mikrovillibesatz an der lumenwärtigen Oberfläche gekennzeichnet. In ihrem Zytoplasma enthalten sie zahlreiche Lamellarkörperchen, die den oberflächenaktiven Surfactant aus Lecithin und anderen Phospholipiden - vor allem als Dipalmitoyllecithin (von WICHERT, 1978 (163)) - beinhalten und in

das Alveolarlumen sezernieren (ASKIN und KUHN, 1971 (2)). Dort bildet der Surfactant einen dünnen, zusammenhängenden Film an der Oberfläche der Alveolarepithelien (WEIBEL und GIL, 1968 (170)). Er reduziert die Oberflächenaktivität in den Alveolen und besitzt damit antiatелеktatische Wirkung (von WICHERT, 1979 (164)). Die Pneumozyten Typ II besitzen zusätzlich noch die Fähigkeit zur Zellteilung, wobei sich im Rahmen einer „Zellmauserung“ Pneumozyten Typ II innerhalb von 48 Stunden in Pneumozyten Typ I umwandeln können (EVANS et al., 1973 (39)).

Die Alveolenwand wird von einem dichten Netz kapillärer Gefäße durchzogen, die zur Oberflächenvergrößerung noch in die Alveolen-



lichtung vorspringen (SOBIN et al. 1974 (150)) (Abb. 2). Die Kapillarwandung besteht aus einer flachen Endothelzellschicht auf einer Basalmembran. Die Endothelzellen untereinander sind durch Zonulae adhaerentes mit strahlenförmig angeordneten, dünnen Filamenten miteinander verbunden. Daneben füllt

Abb. 2

Interalveolarmembran
(Vergrößerung x 4400; STAUB, 1974 (152))

ALV = Alveole; RBC = Erythrozyt
endo. = Endothel;
epith. = Epithel;
b.m. = Basalmembran;
i.s. = Interstitium;

unregelmäßig angeordnetes Bindegewebe die Alveolarwand aus. Im Bereich der respiratorischen Membran, der eigentlichen Gasaustauschstelle, ist die alveolo-capilläre Wand ca. $0.5\ \mu\text{m}$ dünn (WEIBEL, 1973 (171)) und ermöglicht einen passiven Gasaustausch zwischen Luft und Blut. Hier findet man neben einer dünnen endothelialen und epithelialen Zytoplasmalplatte eine verschmolzene endo-epitheliale Basalmembran (LOW und FORKS, 1971 (78)).

Das interstitielle Bindegewebe der Lunge steht kontinuierlich vom Alveolarseptum bis hin zum Lungenhilus durch ein dreidimensionales Maschenwerk miteinander in Verbindung (PIERCE und EBERT, 1965 (117)). In ihm eingebettet verläuft der Lymphabfluß aus dem Interstitium, ein wesentlicher Faktor in Hinblick auf eine Ödementstehung. Hauptvertreter der interstitiellen Zellen sind Fibroblasten mit 37 - 50 % aller parenchymaler Zellen (HANCE et al., 1976 (53); CRAPO et al., 1982 (27)). Daneben besteht die Alveolarwand aus 5 - 8 % Pneumocyten Typ I, ca. 7 % Pneumozyten Typ II, 30 - 38 % Endothelzellen und weniger als 1 % glatter Muskelzellen. Insgesamt ist die Lunge eines der Organe mit der größten Zellheterogenität. Bis zu 40 verschiedene Zelltypen wurden in diesem Organ beschrieben (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)).

Die extrazelluläre Bindegewebsmatrix, die aus den Hauptkomponenten Kollagen, Elastin und amorphen Proteoglykanen besteht, bildet das alveoläre Gerüstwerk. Die Alveolenwand wird von einem Faserwerk das morphologisch zu etwa gleichen Teilen aus kollagenen, elastischen und retikulären Fasern gebildet wird (BARGMANN, 1977 (4)), stabilisiert. Ultrastrukturell nachweisbare Kollagenfaserbündel von $1 - 2\ \mu\text{m}$ Breite begrenzen die Alveolargänge und die termin-

alen Luftwege. Zugleich strahlen große Kollagenfaserbündel von den Alveolargängen in die Adventitia benachbarter Blutgefäße ein, während andere Faserbündel unter ständiger Aufteilung in die interalveolare Wand einstrahlen, um dort ein dichtes Netzwerk zu bilden. Alle Kollagenfasern der interalveolären Wand scheinen mit endo- wie epithelialer Basalmembran in enger Verbindung zu stehen (SOBIN et al., 1974 (150)). Elastische Fasern umgeben die Alveolen als Faserkorb und bilden an den Alveolareingängen dicke elastische Faserringe. Tangentialfasern verlaufen von Ring zu Ring und ziehen in schraubigem Verlauf um die Lichtung der Alveolargänge (BARGMANN, 1974 (4)). Das amorphe Material des Extrazellulärtraumes zeigt keinen besonderen Verteilungsmodus. An vielen Stellen jedoch füllt es den Platz zwischen den Kollagenfaserbündeln aus (LOW und FORKS, 1971 (78)). An den Alveolenrändern befindet sich glatte Muskulatur, die als knopfartig vorspringende Randleifen auf Längsschnitten zu sehen ist. Dieses Muskelnetz besitzt vor allem Bedeutung in der Regulierung der Weite der Ductus alveolares und damit der Alveolarbelüftung (BARGMANN, 1974 (4)).

An eingewanderten Immuneffektorzellen nennen HANCE et al. (1976, (53)) mit 80 - 90 % die Makrophagen als Hauptteil aller immigrierten Zellen, während sich der Rest aus Lymphozyten, neutro-, baso- und eosinophilen Granulozyten und Histiozyten zusammensetzt. Vor allem die Makrophagen haben eine besondere Bedeutung, da sie zumeist der Alveolarwand lumenwärts aufsitzen und dort Fremdkörper eliminieren, wie auch überschüssigen Surfactant abbauen. Sie stammen vor allem von Monozyten ab und gelangen, nach Austritt aus den Kapillaren, durch das Interstitium in die Alveolenlichtung (RIESNER, 1978 (135)).

2.1.2. Biochemische Zusammensetzung des Lungengewebes

Normales Lungengewebe setzt sich zu 75- 80 % aus zellulärem Material und zu etwa 20 - 25 % aus extrazellulärer Matrix zusammen (HANCE et al., 1976 (53)). An Zellen lassen sich die bereits oben beschriebenen 4 Hauptzellpopulationen (Pneumozyten Typ I und II, Endothelien und Fibroblasten) sowie die Immunefektorzellen nachweisen. Der biochemisch feststellbare, indirekte Parameter für die Zellzahl, die DNS, kann in der Lunge in einer Konzentration von 11.1 - 25.8 mg/g Trockengewicht gefunden werden (Tab. 2).

Die Gewebestruktur wird von der extrazellulären Matrix, die vornehmlich aus den 3 Bindegewebskomponenten Kollagen, Elastin und Proteoglykanen besteht, determiniert (CRYSTAL et al., 1978 (30)). Von diesen Komponenten stellt das Kollagen die größte Fraktion mit etwa 60 - 70 % des Bindegewebes (HANCE et al., 1976 (53)). Somit repräsentiert das Kollagen etwa 15 - 20 % des Lungentrockengewichtes (Tab. 3), was in einer normalen Lunge eine Kollagen-gesamtmenge von 15.6 - 27.7 g bedeutet (Tab. 4).

Tabelle 2

D N A - Konzentration normaler Lungen

Autor		n	DNA-Konzentration (mg/ g Trockengew.)
Bradley (14),	1975	4	11.1 ± 3.4
Riede (132),	1979	+	15.9 ± 6.4
Fulmer (42),	1980	6	25.8 ± 2.9

$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

+ = nicht angegeben

Tabelle 3

Kollagenkonzentration normaler Lungen

Autor		n	Kollagenkonzentration (mg/g Trockengew.)
Briscoe (18),	1959	36	74 - 193
Briscoe (19),	1959	26	87 - 150
Pierce (115),	1960	48	132
Pickrell (113),	1971	6	139
Bradley (14),	1975	4	196
Hance (52),	1975	+	189
Fulmer (41),	1976	6	200
Zapol (176),	1979	9	168
Fulmer (42),	1980	6	180

+ = nicht angegeben

Tabelle 4

Kollagensgesamtgehalte normaler Lungen

Autor		n	Kollagengehalt
Pierce (116),	1961	9	15.6
Pecora (112),	1967	9	27.7
Zapol (176),	1979	9	21.1

Das Kollagen, als Hauptbindegewebsbestandteil, wird als Prokollagenmolekül aus 3 helikalen Ketten synthetisiert. Während der Biosynthese an den Ribosomen erfolgen bereits enzymatisch katalysierte Veränderungen: wie in Abb. 3 dargestellt ist, werden einige Prolin- und Lysinreste zu Hydroxyprolin und Hydroxylysin hydroxyliert, sowie an einige Hydroxylysinreste Zuckermoleküle (Glucose bzw. Galaktose-Glucose) gekoppelt. Im weiteren werden nach der Sekretion am NH_2 - und COOH -terminalen Moleküle Propeptide abgespalten und eine intermolekulare Quervernetzung möglich gemacht. Nach spontaner Zusammenlagerung mehrerer Moleküle zur Fibrille kommt es zur enzymatischen Oxidation von

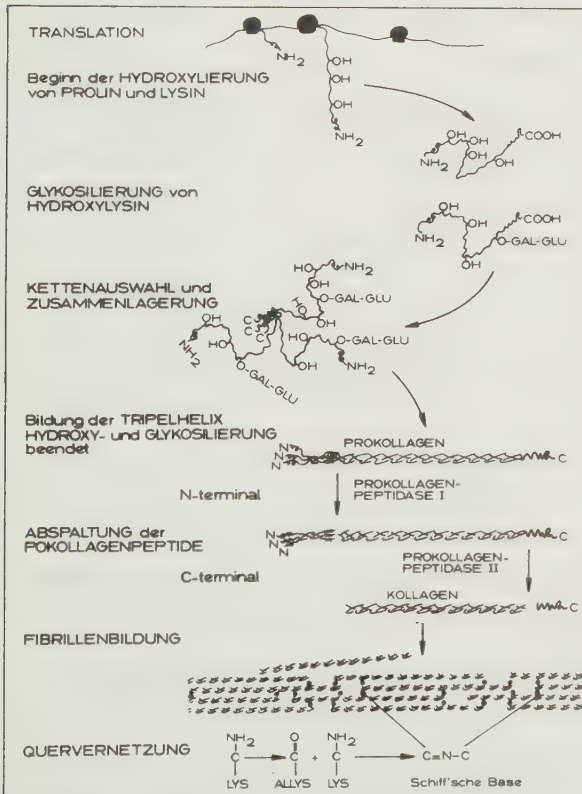


Abb. 3
Biosynthese des
Kollagen
(nach MÜLLER und
KÖHN, 1975 (103))

Hydroxylysinresten durch die Lysyloxidase sowie nachfolgend spontan zur Ausbildung von kovalenten Quervernetzungen zwischen benachbarten Molekülketten. So vernetzte Kollagenfibrillen lagern sich wiederum zu größeren Einheiten, den Kollagenfasern zusammen (MÜLLER und KÜHN, 1971 (103); MEIGEL und MÜLLER, 1975 (89); KRIEG und KÜHN, 1982 (70)). Die einzelnen Kollagenketten ihrerseits bilden eine heterogene, genetisch festgelegte Gruppe verschiedener Makromoleküle (CRYSTAL et al., 1978 (30)), die wiederum die Heterogenität der verschiedenen Kollagentypen begründet (Tab. 5). Bis heute lassen sich 6 ver-

Tabelle 5

Kollagenpolymorphismus

in der Lunge

Typ	Ketten	Organ- Vorkommen	mögliche Bedeutung
I	$2\alpha_1(I)$ α_2	Knochen, Dentin, Sehnen, Faszien, Haut, Gefäße, inne- re Organe	Gewebstfestig- keit
II	$3\alpha_1(II)$	hyaliner Knorpel, Glaskörper	Auffangen von Druckkräften
III	$3\alpha_1(III)$	Haut, Gefäße, innere Organe	Elastizität
IV	?	Basalmembran	Basalmembran- festigkeit
V	$3\alpha_A$, $3\alpha_B$ oder $1\alpha_A$ $2\alpha_B$	Basalmembran, Zelloberfläche	Basalmembran- festigkeit

schiedene Kollagentypen nachweisen, von denen bislang 4 Typen im Lungeninterstitium nachgewiesen werden konnten (BRADLEY et al., 1974 (13); Madri und FURTHMAYER, 1979 (81); McLEES et al., 1977 (84)).

Mit etwa 60 - 65 % bildet Kollagen Typ I die Hauptmenge des pulmonalen Kollagens (SEYER et al., 1976 (147); REISER und LAST, 1981 (128)). Kollagen Typ I besteht aus 2 α 1(I)- sowie einer α 2-Kette. Immunhistologische Untersuchungen lokalisieren diesen Kollagentyp vornehmlich im interalveolaren Raum in unregelmäßiger Anordnung (MADRI und FURTHMAYER, 1980 (82); BATEMAN et al., 1981 (5)). Ihm wird vor allem eine strukturstabilisierende Wirkung zugeschrieben, zumal es vor allem in rigiden Geweben wie Haut, Knochen und Sehnen zu finden ist (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)).

Kollagen Typ II besteht aus drei identischen α 1(II)-Ketten und ist Hauptbestandteil des Knorpels. Es kommt in der Lunge nur in Verbindung mit trachealem und bronchialem Knorpel vor (BRADLEY et al., 1974 (13)). Im alveolären Interstitium läßt sich kein Kollagen Typ II nachweisen.

Kollagen Typ III repräsentiert etwa 30 - 35 % des parenchymalen Gesamtkollagens (SEYER et al., 1976 (147); REISER und LAST, 1981 (128)). Es besteht aus 3 Ketten von α 1(III). Seine Lokalisation ist vor allem in einer perialveolären und pericapillären Schicht sowie in Verbindung mit den Kollagen Typ I-Bündeln zu finden (KONOMI et al., 1981 (67); BATEMAN et al., 1981 (5)). Dem Kollagen Typ III werden hauptsächlich elastische Eigenschaften zugeordnet. Zudem wird ihm eine wichtige Rolle bei der alveolären Fibrillogenese zugeschrieben (CRYSTAL et al., 1978 (30)).

Die restlichen Kollagentypen, Typ IV und V, sind vor allem Basalmembrankollagene, die zusammen mit nichtkollagenen Proteinen wie

Laminin auftreten (MADRI und FURTHMAYER, 1979 (81)). Sie machen jedoch nur weniger als 5 % des parenchymalen Kollagens aus (CRYSTAL et al., 1978 (30)).

Das pulmonale Elastin ist demgegenüber bislang noch nicht hinreichend charakterisiert. Nach unserem heutigen Wissen besteht die elastische Faser aus 2 Komponenten, dem eigentlichen Elastin und dem mikrofibrillären Protein (UITTO, 1979 (161)). Elastin stellt mit ca. 20 - 30 % des gesamten Lungenbindegewebes die zweitgrößte Bindegewebsfraktion (HANCE et al., 1976 (53)). Dementsprechend liegt die Elastinkonzentration in normalem Lungengewebe bei etwa 30 - 50 mg/g Trockengewicht (COLLINS und JONES, 1978 (26); UITTO, 1979 (161); PIERCE et al., 1959 (114)).

Elastin wird, ähnlich dem Kollagen, als Proelastin in einer Vorform synthetisiert und in posttranslationalen Schritten modifiziert. Neben der Hydroxylierung einiger weniger Prolinreste zu Hydroxyprolin ist vor allem die charakteristische Vernetzung von 4 Aminosäuren Leucin bzw. Isoleucin zu der elastinspezifischen Aminosäure Desmosin bzw. Isodesmosin zu vermerken (UITTO, 1979 (161); MECHAM, 1981 (88)). Bisherige Befunde deuten darauf hin, daß nur ein genetisch festgelegter Elastintyp existiert (MECHAM, 1981 (88)). Die bedeutenden elastischen Eigenschaften dieses Proteins werden vor allem der spezifischen Dehnungsfähigkeit der Aminosäure Desmosin bzw. Isodesmosin zugeschrieben (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)). Die mikrofibrilläre Komponente der elastischen Faser hingegen enthält weder Desmosin noch Isodesmosin (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)), ihre Aminosäurezusammensetzung ähnelt in keiner Weise der des Elastins (UITTO, 1979 (161)). Dieses mikrofibrilläre Protein soll vor allem für die relative Unlöslichkeit der elastischen Faser aufgrund zahlreicher Disulfidbrücken mitverantwortlich sein (UITTO, 1979 (161)). Gleichwohl ist

eine eingehende Charakterisierung des mikrofibrillären Proteins noch nicht abgeschlossen.

Die Proteoglykane sind großmolekulare Proteine mit langen Kohlehydratseitenketten, die auch als Glykosaminoglykane bezeichnet werden (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)). Die Proteoglykane können in eine ganze Gruppe verschiedener Typen eingeteilt werden, wovon 5 verschiedene Typen im Lungenparenchym gefunden werden können. Heparin und Heparansulfat (zusammen etwa 38 % aller Lungenproteoglykane) sind überall im Lungengewebe nachweisbar. Zudem sind Dermatan-sulfat mit ca. 28 %, Chondroitin-6-Sulfat mit 20 %, Hyaluronsäure mit 10 % und Chondroitin-4-Sulfat mit etwa 4 % zu finden (HANCE et al., 1976 (53)). Obwohl die Proteoglykane insgesamt nur weniger als 1 % des gesamten Lungenbindegewebes ausmachen, sollen sie besonderen Einfluß auf den physikalischen Zustand anderer Bindegewebskomponenten, vor allem das Kollagen, haben (HANCE et al., 1976 (53)). Die Proteinanteile der Proteoglykane sind bisher noch wenig charakterisiert (HANCE und CRYSTAL, 1975 (52)).

2.1.3. Funktion der Lunge

Die Hauptaufgabe der Lunge besteht in der Aufrechterhaltung eines funktionierenden Gasaustausches zwischen Blut und Luft. Dabei ist neben einer ausreichenden Sauerstoffsättigung der Inspirationsluft eine regelrechte Ventilation bei genügender Perfusion und unbehinderter Diffusion nötig.

In normaler Atemluft beträgt der Sauerstoffpartialdruck (P_{O_2}) je nach Höhenlage etwa 150 mm Hg (21 % O_2 in Raumluft), durch Vermischung mit intrapulmonaler Luft sinkt dieser P_{O_2} intraalveolär auf ca. 100 mm Hg ab. Eine normale Diffusion vorausgesetzt, reicht

dieser alveoläre P_{O_2} aus, eine 98 %-Sauerstoffsättigung des Hämoglobins und einen pulmonal-venösen P_{O_2} von 100 mm Hg zu erreichen (GANONG, 1972 (43)).

Das übergeordnete Regulationssystem der Ventilation ist in den In- und Expirationszentren der Formatio reticularis im Stammhirn lokalisiert (MITCHELL und BERGER, 1975 (92)), von wo aus über afferente Leitungsbahnen der arterielle P_{O_2} und P_{CO_2} überwacht werden und gleichzeitig über die efferente Innervation der Atemmuskulatur regulierend eingegriffen werden kann. Die dabei eingesetzte Atemmuskulatur erhöht durch ihre Kontraktion das intrathorakale Volumen. Durch den dabei auftretenden negativen Druck in Pleuraspalt zwischen parietalem und viszeralem Pleurablatt folgt die Lunge passiv der Thoraxbewegung, es kommt zur Inspiration. Die Expiration wird durch die elastischen Rückholkräfte, vor allem das elastische Fasersystem des Parenchyms und die alveoläre Oberflächenspannung, passiv bewirkt (GUYTON, 1981 (50)). Um eine vollständige Kollabierung der Alveolen zu verhindern und gleichzeitig die erneute Entfaltung der Alveolen zu erleichtern, wird als oberflächenaktive Substanz der Surfactant in das Alveolarlumen sezerniert (ASKIN und KUHN, 1971 (2)). Die gesamten auftretenden Kräfte bei der Thorax- und Lungenentfaltung werden in der Compliance zusammengefaßt, die somit ein Maß für die Lungendehnbarkeit ergibt. Eine Fibrosierung, Ödembildung, Blockierung der Bronchiolen oder sonstige Behinderung der Lungenausdehnung schlägt sich als meßbare Erniedrigung der Compliance nieder (GUYTON, 1981 (50)).

Während eines normalen Atemzuges in Ruhe werden etwa 500 ml Luft eingeatmet, die Vitalkapazität, d.h. das maximal mobilisierbare Luftvolumen der Lunge, umfaßt etwa 5 l. Im Zustand maximaler Ex-

piration verbleiben normalerweise noch etwa 1000 ml Luft in den Luftwegen und Alveolen (Residualvolumen). Von den inspiratorischen Volumina ist der Totraum, die belüftete Fläche ohne Gasaustausch (Bronchien, Trachea, Nasenrachenraum) abzuziehen, um als eigentliche Richtgröße die alveoläre Ventilation bestimmen zu können. Der normale Totraum beträgt etwa 150 ml (GANONG, 1972 (43)). Bei Vermehrung von Gewebe oder Flüssigkeit in der Lunge nimmt die Vitalkapazität ab, das Residualvolumen ist in der Regel vermindert, während sich der Totraum durch Ventilations-Perfusions-Störungen noch erhöhen kann (GUYTON, 1981 (50)).

Neben einer funktionierenden Ventilation ist eine ausreichende Perfusion für den Gasaustausch erforderlich. Das Gefäßsystem der Lunge gehört dem Niederdrucksystem mit arteriellen Drucken von 25/10 mm Hg an (GUYTON, 1981 (50)). Das in den Lungengefäßen jeweils vorhandene Blutvolumen beträgt insgesamt etwa 1000 ml, wovon 100 - 200 ml in den Kapillaren vorhanden sind (GANONG, 1972 (43); STAUB, 1974 (152)). Durch Vasomotorenaktivierung oder mechanische Kompression gelingt es sehr schnell die intrapulmonale Blutmenge erheblich zu verändern (GUYTON, 1981 (50)). Der Blutdruck in den Lungenkapillaren beträgt etwa 10 mm Hg, der onkotische Druck jedoch 25 mm Hg, sodaß die Alveolen durch einen kapillarwärts gerichteten Druckgradienten von etwa 15 mm Hg von Flüssigkeit freigehalten werden. Bei Erhöhung des Kapillardruckes über 25 mm Hg und/oder Verringerung des onkotischen Druckes unter 10 mm Hg kommt es zum Lungenödem (GANONG, 1972 (43)).

Normalerweise beträgt das Verhältnis von alveolärer Ventilation zur Lungenperfusion 0.8. Dieses Verhältnis kann durch Mangelbelüftung und/oder fehlender Alveolarperfusion gestört sein. Bis zu einem gewissen Grade kann ein normales Ventilations-Perfusions-

Verhältnis durch reflektorische Perfusionseinschränkung mangelbelüfteter Alveolen aufrechterhalten werden (BERGOFKY, 1974 (7)). Eine Zunahme des Quotienten bedeutet eine Vergrößerung des funktionellen Totraumes, eine Abnahme ist gleichbedeutend mit einer Vergrößerung des Shuntvolumens. Durch physiologische Beimengung von nicht oxygeniertem zum arterialisierendem Blut (Bronchialarterien, Thebesische Venen), also einem physiologischen Shunt von etwa 2 % des gesamten arteriellen Blutes, sinkt normalerweise der arterielle P_{O_2} von pulmonal-venös 100 mm Hg auf systemisch-arteriell 95 mm Hg ab (GANONG, 1972 (43)).

Der eigentliche Austausch von O_2 und CO_2 erfolgt durch passive Diffusion entlang der alveolo-kapillären Austauschmembran in den Alveolen. Trotz kurzer Verweildauer der Erythrozyten innerhalb der Gasaustauschstrecke von etwa 0.75 sec in Ruhe und 0.45 sec bei Arbeit (GUYTON, 1981 (50)), erfolgt im Normalzustand eine fast vollständige O_2 -Beladung des Hämoglobins, sowie eine Diffusion überschüssigen CO_2 s in das Alveolarlumen, die ihrerseits wesentlich schneller vor sich geht als die O_2 -Diffusion. Die Meßgröße der Diffusionskapazität, also die O_2 -Menge, die pro Minute und mm Hg Partialdruckdifferenz zwischen Luft und Blut in die Kapillaren übertritt, beträgt in Ruhe ca. 20 ml/min/mm Hg. Sie kann unter Arbeitsbedingungen durch Kapillarerweiterung auf 65 ml/min/mm Hg steigen. Während die Diffusionskapazität für O_2 bei einer Verdickung der Alveolenwand, wie bei Fibrose und Ödem, absinkt (alveolo-kapillärer Block), ist die Lungendiffusionskapazität für CO_2 wegen seiner leichteren Diffusion zumeist unbeeinflusst (GANONG, 1972 (43)).

Als weitere wichtige Funktion der Lunge ist - im Verein mit renalen Kompensationsmechanismen - die Aufrechterhaltung eines

normalen Säure-Basen-Haushaltes anzusehen. Dazu können in der Lunge innerhalb kürzester Zeit durch Abatmen von CO_2 H^+ -Ionen eliminiert werden. Im Rahmen des Kohlensäure-Bicarbonat-Puffersystems werden die freien H^+ -Ionen mit HCO_3^- -Ionen zu H_2CO_3 umgesetzt, das wiederum unter Katalyse des Enzyms Carboanhydrase in abatembares CO_2 und Wasser gespalten wird (GANONG, 1972 (43)).

Zusätzlich zu Atemfunktion und Säure-Basen-Haushalt erfüllt die Lunge wichtige Stoffwechselaufgaben. So entfaltet das Lungenparenchym nicht nur einen regen intermediären Energiestoffwechsel (TIERNEY, 1974 (158)) und leistet wichtige biosynthetische Aufbauarbeit, beispielsweise bei der Surfactantsynthese (von WICHERT, 1978 (163)), es finden auch die Umwandlung von Angiotensin I zu Angiotensin II mittels "angiotensine converting enzyme" und eine Inaktivierung von Bradykinin und 5-Hydroxytryptamin statt. Neueren Befunden nach nimmt die Lunge nicht nur vasoaktive Stoffe wie Histamin und Prostaglandine auf, die Lunge soll auch eine der Hauptproduktionsstätten für diese Substanzen darstellen (DEMLING, 1980 (33)).

2.2. Charakterisierung von Schock und Schocklunge

2.2.1. Die Entwicklung des Schocksyndroms - historischer Rückblick

Schwere Verletzungen und ihre Folgen haben die Menschheit schon seit Alterszeiten beschäftigt. Bereits in den ersten schriftlichen Aufzeichnungen früher Kulturen gibt es Belege über die Kenntnis von Volumenmangelschock und Blutverlust (GERSMEYER und YASARGIL, 1978 (45)). Erste Hinweise darauf finden sich beispielsweise schon in HOMERS Ilias (59), HIPPOKRATES spricht bereits von einer "Exhämie" etwa 400 v. Chr. (56).

Die Einführung von Schußwaffen im Mittelalter belebt wieder das

medizinische Interesse an schweren Verletzungen und ihre Behandlung (Abb. 4). Gleichwohl verhinderte die Theorie einer Vergiftung durch Schießpulver (BRAUNSCHWEIGK, 1497 (16)) lange Zeit eine intensive Auseinandersetzung mit dem Problem. Erst der berühmte Militärchirurg Ambroise PARE (1545 (110)) wendete sich entschieden gegen die Vergiftungstheorie. Er überlieferte uns auch eine genaue Beschreibung der Kardinalsymptome des Schockzustandes, kalten Schweiß und Blässe bei Fehlen des spürbaren Pulsschlages. Nach Entdeckung des Blutkreislaufes 1628 durch William HARVEY konnten schließlich die Symptome des Schocks einer Kreislaufstörung zugeschrieben werden. Henry-Francois LEDRAN (76)



Abb. 4

Verletzungsarten
im Mittelalter

(H. Gersdorff, 1510)

schreibt 1741 in seinen Buch "Traite ou Reflexions tirees de la Pratique sur les Playes d'Armes a feu" bei einer Beschreibung des Kreislaufschockes, daß die kalten Extremitäten von Verwundeten einer kapillären Kreislaufstörung zuzuschreiben sind:

"True indeed, the Circulation is carried still on with Freedom in all Trunks and larger Branches; but it is suspended in all capillary Subdivisions of these, as well as in the Trunk of the Body as in the Extremities" (engl. Übersetzung, 1743)

Bemerkenswerterweise war es auch der unbekannt gebliebene englische Übersetzer LEDRANS, der als erster das Wort "Shock" verwendete (MacLEAN, 1977 (80)). Obwohl somit das Wissen über den Zusammenhang von tödlicher Schocksymptomatik und Kreislaufveränderungen vorlag, blieb die Prognose zur damaligen Zeit infaust. Nur durch vorzeitigen und schnellen Eingriff, wie Amputation, konnten die berühmten napoleonischen Militärchirurgen PERCY und LARREY Schock und Wundinfektion verhüten (DUMESNIL und SCHADEWALDT, 1968 (36)). Gleichzeitig setzte sich damals die Erkenntnis durch, daß schnelle Erstversorgung und Transport, erstmals 1793 durch LARREY als "ambulances volantes" eingeführt (HABERLING et al., 1931 (51)), für die Verwundeten von großer Bedeutung war. Der Zusammenhang zwischen Kriegsmedizin und der Erforschung und Bekämpfung des Schocks blieben aber auch weiterhin unverkennbar. Die Notfallmedizin und mit ihr die Behandlung des Schocks entwickelte sich in voneinander abgrenzbaren Stadien weiter (MITTERMAYER et al., 1973 (95)):

- Während des Ersten Weltkrieges konnte mit Hilfe der Prinzipien von Asepsis (1847 von Ignaz Philip Semmelweis) und Antisepsis (1867 von Joseph Lister eingeführt) wie auch der ersten erfolg-

reichen Gasbrandbekämpfung die aerobe und anaerobe Wundinfektion mit nachfolgender Sepsis besser beherrscht werden.

Der erste Weltkrieg gab auch Anlaß zu erster und intensiver Beschäftigung mit den Schockproblemen durch tierexperimentelle Forschung und praktische Chirurgie gemeinsam (SCHWIEGK, 1942 (146)). CANNON (22) konnte 1918 zusammenfassend die Bedeutung von Blutdruckabfall und Azidose beim Schockgeschehen herausstreichen (Abb. 5). Kurze Zeit später führte BLALOCK (1930 (11)) den klinisch manifesten Schock auf die Extravasation von Blutplasma zurück.

SOME ALTERATIONS IN DISTRIBUTION AND CHARACTER OF BLOOD IN SHOCK AND HEMORRHAGE

W. B. CANNON, M.D. (BOSTON)

Captain, M. R. C., U. S. Army

JOHN FRASER, M.D.

Captain, R. A. M. C.

AND

A. N. HOOPER

Captain, R. A. M. C.

FRANCE

INTRODUCTION

The importance of traumatic shock as a serious complicating factor of wounds and of surgical operations, and its mysterious nature, have combined to

Abb. 5

Zusammenfassung der Beobachtungen von CANNON et al.
über den traumatisch-hämorrhagischen Schock während
des Ersten Weltkrieges

MOON (100) sah 1938 eine Kapillarpermeabilitätsschädigung als pathophysiologische Schockgrundlage an.

- Erst im Laufe des Zweiten Weltkrieges wurde mit Hilfe von Bluttransfusionen eine systematische Bekämpfung des Volumenmangels begonnen (SINGER und ASHWORTH, 1962 (149)). Die Grundlage hierfür war durch die LANDSTEINERSche Entdeckung der Blutgruppenantigene 1901 geschaffen worden. Haupttodesursache war jedoch immer noch schockbedingtes Herzversagen.
- Während des Koreakrieges trat eine andere Organmanifestation des Schockgeschehens in den Vordergrund: das akute Nierenversagen. Es war durch lange Schockzeit und noch unvollständige Volumentherapie bedingt. Der Einsatz künstlicher Blutersatzlösungen (GRÜNWALL und INGELMAN, 1945 (47)) verbesserte die Möglichkeiten einer weiteren Volumensubstitutionstherapie (DAVIS, 1955 (31)).
- Im Vietnamkrieg konnte das akute Nierenversagen durch konsequente Volumentherapie verhindert werden. Die Lunge wurde nun zum Zielorgan des Schockgeschehens und damit zum Hauptproblem Nr. 1 ("Da-Nang-Lunge", MITTERMAYER, 1975 (96)). Bis heute stellt die Schocklunge ein immer noch ungelöstes Problem dar.

Diese Pathomorphose des Schocks, die bei kaum einem zweiten Krankheitsbild eine ähnlich schnelle Veränderung erfahren hat, ist dabei im wesentlichen auf eine verlängerte Überlebenszeit der Patienten zurückzuführen (MITTERMAYER et al., 1973 (95)). Neben therapeutischen Verbesserungen ist dies auf kürzere Rettungszeiten durch aufwendige Rettungsmittel bei besserer Organisation zurückzuführen.

Gleichwohl hat sich in den 15 Jahren seit der ersten genauen Charakterisierung des "adult respiratory distress syndroms" (ARDS), der amerikanischen Bezeichnung für die Schocklunge, innerhalb

dieses respiratorischen Versagens wiederum ein Wandel eingestellt. Aus der "Lunge im Schock", Veränderungen, die akut nach Eintritt eines Schockzustandes auftreten und heute im Sektionsgut nur noch wenig gesehen werden, ist das "Schocklungensyndrom" mit chronisch fortschreitenden Veränderungen im Sinne eines Gewebsumbaus geworden (SCHLAG et al., 1982 (145)).

2.2.2. Definition und Pathogenese des Schock

"Schock stellt ein generalisiertes Kreislaufversagen der Strombahnperipherie mit Gewebsschädigung durch Minderdurchblutung dar". So definieren SANDRITTER und THOMAS (1977 (140)) den Kreislaufschock, SIEGENTHALER (1976 (148)) versteht unter Schock ein Syndrom, das durch eine akute Verminderung der nutritiven Durchblutung lebenswichtiger Gewebe gekennzeichnet ist. Dabei besteht eine Verminderung des Sauerstoffangebotes und/oder eine Störung der Sauerstoffabgabe oder -verwertung. Die im Gewebe anfallenden sauren Stoffwechselprodukte werden nur ungenügend abtransportiert. Das Resultat sind funktionelle und strukturelle Veränderungen in den betreffenden Organen. RIECKER (1982 (129)) betont, daß die Symptomatologie des Schocks durch ein Multi-Organversagen graduell verschiedener Ausprägung charakterisiert ist. Die Minderperfusion des Kapillarnetzes kann im wesentlichen durch 4 Faktoren hervorgerufen werden:

a) eine verminderte Herzauswurfleistung, b) ein vermindertes Blutvolumen, c) eine arterioläre und postkapilläre Vasokonstriktion bzw. Öffnung arteriovenöser Shunts, d) Störungen der Strombahn selbst durch gesteigerte Kapillarpermeabilität, intravasale Koagulation u. ä.

In Zusammenhang mit verschiedenen Grundstörungen unterscheidet man ätiologisch je nach dem auslösenden Ereignis die in Tab. 6

dargestellten Formen . Der Begriff "Schock" faßt also das Hauptsymptom einer ganzen Reihe verschiedener Krankheitsbilder zusammen.

Tabelle 6

Die verschiedenen Formen des Schocks

- A. Hypovolämischer Schock
 - I. Blutverlust (hämorrhagischer Schock)
Blutverlust bei ausgedehntem Gewebstrauma
(traumatischer Schock)
 - II. Plasma-, Wasser- und Elektrolytverlust
- B. Kardiogener Schock
- C. Septischer Schock
- D. Anaphylaktischer Schock
- E. Neurogener Schock
- F. Intoxikationen
- G. Endokriner Schock

Im Falle des hypovolämisch-traumatischen Schocks liegt eine akute Verminderung des Blutvolumens bei gleichzeitig gesteigerter Permeabilität der Kapillaren vor. Diese Kapillarpermeabilitätssteigerung wird einer traumatisch bedingten Freisetzung oxidativer oder proteolytischer Faktoren zugeschrieben. Intravasale Koagulation und gefäßspastische Faktoren spielen ebenfalls eine Rolle.

Biochemisch ist "Schock" als ein Prozeß charakterisiert, bei dem der Stoffaustausch zwischen Zellen und umgebender extrazellulärer Flüssigkeit nach Richtung, Geschwindigkeit und Bedarfssteuerung gestört ist. Eingeschlossen davon ist der Fluß von Signalen, Reizen und Mediatoren (ROKA, 1978 (137)). Die Folge ist ein kritisch

verminderter Sauerstoffdruck am Ort der oxydativen Phosphorylierung mit verminderter Bereitstellung energiereicher Phosphate. Desweiteren ist eine nachfolgende Verminderung der zellulären Syntheseleistung, der Stofftransporte durch Zellmembranen und mitochondriale Membranen, der Elimination toxischer Metaboliten, von Säureäquivalenten und lysosomalen Enzymen, wie auch eine Aktivierung des Gerinnungs- und Kininogen-Kinin-Systems durch Kallikrein zu beobachten (RIECKER, 1982 (129)).

2.2.3. Charakterisierung der Schocklunge

Die vorstehend wiedergegebene Definition des Schocks macht klar, daß schockbedingte Lungenveränderungen immer als Teil eines komplexen Geschehens im Rahmen eines Multi-Organversagens betrachtet werden müssen. Dies erklärt auch, daß es für die Schocklunge nur deskriptive Charakterisierungen gibt. Das "Schocklungensyndrom" gilt dabei als ein Syndrom mit einheitlicher klinischer Symptomatik, typischem Verlauf und charakteristischen klinischen, radiologischen und pathologisch-anatomischen Veränderungen im Gefolge eines Schocks. So versteht von WICHERT (1979 (164)) beispielsweise unter dem Begriff "Schocklunge" ein Krankheitsbild des Lungenparenchyms, das nicht primär entzündlich bedingt ist, bei dem der Schaden an der Alveolenwand abläuft, vermittelt oder gefördert von Toxinen, Permeabilitätsstörungen und/oder Veränderungen der Gerinnung sowie einer Störung des oberflächenaktiven Systems. Erschwert wird also die klare Charakterisierung der Schocklunge durch das bisherige Fehlen einer klaren ätiologischen Grundlage, wie auch letztlich durch eine uneinheitlich gehandhabte Nomenklatur, deren wichtigste Synonyme in Tab. 7 wiedergegeben sind (MITTERMAYER, 1975 (96); STEINBEREITHNER, 1976 (153)).

Tabelle 7

Synonyme für den Begriff "Schocklunge"

Pneumonose (BRAUER, 1932 (15));
wet lung (BURFORD, 1945 (20));
congestive atelectasis (JENKINS, 1950 (61));
respiratory distress syndrome in adults (ASHBAUGH, 1967 (1));
Sauerstofflunge (DELEMOS, 1969 (32));
posttraumatische Lungeninsuffizienz (MOORE, 1969 (101));
progressive pulmonale Insuffizienz (COLLINS, 1969 (24));
pump lung (LAVER, 1970 (75));
capillary leak syndrome (DERKS, 1973 (34));
stiff lung syndrome (BACHOFEN, 1974 (3));
hemorrhagic lung syndrome (MITTERMAYER, 1975 (96));
Da-Nange-Lunge (MITTERMAYER, 1975 (96));
Respiratorlunge (MITTERMAYER, 1975 (96));
Beatmungslunge (STEINBEREITHNER, 1976 (153));
hyalines Membransyndrom (von WICHERT, 1979 (164));
toxisches Lungensyndrom (von WICHERT, 1979 (164));
progressive Lungenverfestigung (von WICHERT, 1979 (164));

2.2.4. Ätiologie und Pathogenese der Schocklunge

Trotz der weitreichenden Charakterisierung der Schocklunge bleibt die eigentliche Ursache für die Veränderungen immer noch weitgehend ungeklärt. Zwar schreiben viele Autoren der hypoxischen Zellschädigung die maßgebliche Rolle an der Lungenschädigung zu (SIEGENTHALER, 1976 (148)), doch können heute als ätiologische Faktoren für die Schocklungenentstehung eine ganze Reihe weiterer Prozesse angesehen werden. Wie von DEMLING (1980 (33)) zusammengefaßt, sollen folgende Faktoren an der Lungenschädigung im Schock beteiligt sein:

- neurogene Faktoren (venöse Gefäßkonstriktion)
- Mikroaggregation von Thrombozyten und Veränderungen des Gerinnungssystems,
- Depression des retikuloendothelialen Systems und Fibronektinmangel
- Leukozytensequestrierung, Komplementaktivierung und Ausschüttung lysosomaler Enzyme
- Fettembolisierung
- Prostanoidsynthesesteigerung (pulmonale Hämodynamik)
- Sauerstofftoxizität

Dieses "multifaktorielle Geschehen" (STEINBEREITHNER, 1976 (153)) erklärt die Diskrepanz tierexperimenteller Beobachtungen, bei denen trotz hämorrhagischen Schocks keine pathologischen Veränderungen in der Lunge erzeugt werden konnten, oder aber trotz schwerer histologischer Läsion keine Hypoxie auftrat (SIEGENTHALER, 1976 (148)). Die Mangelperfusion mit Gewebshypoxie scheint also für sich allein ohne das Hinzutreten weiterer Faktoren nicht als alleinige Ursache der Alterationen anzusehen ^{zu} sein. Zusätzlich reagiert die Lunge mit einer stereotypen Reaktion auf eine ganze Reihe verschiedener Schädigungen. Neben dem eigentlichen Schock konnten Veränderungen im Sinne "Schocklunge" auch nach Intoxikationen mit Paraquat und Bleomycin (REISER und LAST, 1981 (128)), nach Ozongabe (CROSS et al., 1981 (28)), oder Bromcarbamid-Applikation (MITTERMAYER et al., 1972 (94)), nach Gabe von butyliertem Hydroxytoluen (KEHRER und WITSCHI, 1980 (66)), nach pulmonalen Infekten, Aspirationspneumonie, Sauerstoffvergiftung (DEMLING, 1980 (33)) oder Bestrahlung (COLLINS et al., 1978 (25)) festgestellt werden. Diese Vielzahl verschiedener Ursachen für die Auslösung pulmonaler, "schockähnlicher" Veränderungen haben gleichzeitig

immer wieder Zweifel laut werden lassen, ob all diesen Prozessen, die ein an der Lunge gleichartig ablaufendes Reaktionsmuster hervorrufen, auch wirklich ein einheitliches Schädigungsmuster zugrunde liegt. (FISHMAN, 1973 (40); DEMLING, 1980 (33)). Dies erst würde erlauben, alle Prozesse zu einem einheitlichen Krankheitsbild zusammenzufassen.

2.2.5. Klinisches Bild der "Schocklunge"

Bereits 1950 beschrieb JENKINS et al. (61) ein "syndrome of congestive atelectasis" mit Hypoxämie und Tachypnoe, ein Befund der sich mit den Ergebnisse der experimentellen Studie von EATON (1947 (37)) deckte. ASHBAUGH et al. (1967 (1)) prägte schließlich den Begriff des "acute respiratory distress in adults". An klinischen Zeichen beschrieb er eine arterielle Hypoxie trotz O_2 -Gabe oder assistierter Beatmung und erhöhten pCO_2 bei hoher Atemfrequenz, eine verminderte Compliance und ein radiologisch feststellbares bilaterales alveoläres Infiltrat, das bis zur Konsolidierung fortschreiten kann. BLAISDELL et al. (1970 (9)) nennt als pathophysiologisches Bild eine progressive Abnahme der Compliance, fehlende arterielle Sauerstoffsättigung, die auf eine Zunahme des Shunt-Volumens zurückzuführen ist, sodaß ein P_{aO_2} von 40-50 mm Hg selbst bei 100 % O_2 -Gabe auftritt, sowie eine metabolische Azidose mit progressiver Verschlechterung. Die früher beschriebene Erhöhung des P_{CO_2} erscheint aufgrund von mechanischer Beatmung erst spät. Auch LAMY et al. (1976 (72)) weist besonders auf die Hypoxie als Kardinalsymptom des ARDS hin und führt sie auf den hohen intrapulmonalen Shunt zurück, der bei einem Teil seiner Patienten auch nach Vergrößerung der belüfteten Alveolarfläche durch PEEP-Beat-

mung (=Beatmung mit positiv endexpiratorischem Druck) nicht reduziert werden kann. PONTOPIDAN et al. (1972 (122)) faßt die funktionellen Störungen beim ARDS folgendermaßen zusammen:

- Ventilations-Perfusions-Störung (Mikroatelektasen und -thromben),
- verminderte funktionelle Residualkapazität (Mikroatelektasen)
- verminderte Compliance (interstitielles Ödem)
- erhöhtes Shunt-Volumen
- Totraumanstieg
- vermehrtes extravaskuläres Lungenwasser (EVLW) durch eine Permeabilitätsstörung.
- "Diffusionsblock" aufgrund von interstitiellem Ödem und zusätzlicher, später Septenverdickung durch mesenchymale Proliferation.

Blutgasanalytisch zeigen diese Fälle ein weitgehend konstantes Verhalten: zunehmende Hypoxie auch bei Applikation hoher O_2 -Konzentrationen, schwere Azidose und progressive Hyperkapnie (STEINBEREITHNER, 1976 (153)). MOSS und SALETTA (1974 (102)) beschreiben an hämodynamischen Veränderungen neben einer Pulsbeschleunigung besonders ein vermindertes Schlagvolumen des Herzens. Desweiteren beschreiben sie eine Reduzierung des Plasmaproteingehaltes, eine metabolische Azidose und eine Hyperglykämie sowie Gerinnungsstörungen im Sinne einer Verbrauchskoagulopathie. Wie erst kürzlich nachgewiesen, scheinen als prognostische Parameter, die am Krankenbett bestimmt werden können, auch der pulmonale Gefäßwiderstand (STURM et al., 1979 (155)) und das extravaskuläre Lungenwasser (LEWIS et al., 1979 (77)) große Bedeutung zu gewinnen.

Wie bereits von ASHBAUGH et al. (1967 (1)) beschrieben, sind auch röntgenologische Veränderungen im Laufe der Schocklungenentwicklung feststellbar. OSTENDORF et al. (1975(109)) nennt als erste Veränderung im Röntgenbild erweiterte Konturen der Segmentalgefäße, meist in den oberen Mittelfeldern lokalisiert, sowie spindelförmige

Gefäßauftreibungen. Sie werden als Zeichen der initialen Kongestion gewertet. An diese Phase schließt sich in den meisten Fällen eine Opazifizierung ganzer Lungenfelder an, ein Hinweis auf das perivaskulär-interstitielle Ödem mit bevorzugter Lokalisation in den Mittel- und Unterfeldern beider Lungen (MELLMANN et al., 1981 (90)). Schließlich finden sich nach einem längeren Behandlungszeitraum "retikuläre" Verschattungen, die einer Proliferation interstitieller Mesenchymzellen mit Faserbildung, also einer Fibrosierung zugeordnet werden (OSTENDORF et al., 1975 (109)).

2.2.6. Morphologisches Substrat der Schocklunge

1948 beschrieb MOON (100) bei der Autopsie von Schockpatienten eine Mitbeteiligung der Lungen am generalisierten Schock mit ausgeprägtem Lungenödem, Kongestion und Atelektase. MARTIN et al. (1968 (85)) fügte dieser ersten Beschreibung weitere histologische Beobachtungen hinzu: er findet neben einer "congestive atelectasis" auch Fettembolie und hyaline Membranen und gibt Hinweise auf eine mesenchymale Reaktion. So schreibt er, daß in einigen Fällen atelektatische Alveolarwände von Fibroblasten infiltriert sind und eine frühe Kollagenbildung erkennbar ist. Dennoch waren die damaligen Überlebenszeiten nach schwerem Schock und Trauma wohl noch zu kurz, als daß sich ein fibrotisches Geschehen hätte voll ausbilden können. RATLIFF et al. (1970 (126)) finden in der Folgezeit eine Schädigung von Pneumozyten Typ I, eine Veränderung der granulären Pneumozyten Typ II, Endothelläsionen, Mikrothromben aus Thrombozyten, erweiterte Lymphgefäße und eine Trennung interstitieller Bindegewebskomponenten durch das massive interstitielle Ödem. MITTERMAYER et al. (1970 (93)) heben vor allem die Mikrothrombosierung der terminalen Lungenstrombahn hervor, während HILL (55) schon

1971 neben frühen exsudativen Veränderungen mit Ausbildung von hyalinen Membranen und interstitiellem Exsudat eine vorwiegend proliferative Organisation der hyalinen Membranen mit dem Bild der karnefizierenden Pneumonie bis hin zur Lungenfibrose beschreibt. ORELL (108) schreibt 1971, daß eine fibröse Einengung respiratorischer Bronchiolen und Alveolargänge sich ausbildet, wenn die Überlebenszeit ausreichend lang ist. Diese Periode beginnt bei ihm schon etwa nach 1 Woche. Weitere Untersuchungen der frühesten Schockphase unterstreichen das auffällige Bild einer Leukozytensequestrierung im initialen Schockgeschehen (SCHLAG et al., 1976 (144)), GOULD et al. (1972 (46)) fassen die Dynamik der auftretenden histopathologischen Veränderungen zusammen: In der initialen Frühphase findet er eine Schwellung von Pneumozyten und Endothelzellen, die zur Nekrose führt und somit das Auftreten von leeren, d.h. nicht von Zellen besetzten Basalmembranen. Über diese "leeren" Basalmembranen lagern sich hyaline Membranen, während die einzelnen Basalmembranblätter durch das interstitielle Ödem voneinander abgedrängt werden. Nach etwa 1 Woche kommt es zur Proliferation granulärer Pneumozyten Typ II sowie der ersten Ablagerung interstitiellen Bindegewebes mit Proliferation mesenchymaler Zellen. Erst BACHOFEN und WEIBEL (3) fügen 1974 diesen qualitativen Beobachtungen quantitative Aspekte hinzu. Sie finden anhand mikromorphometrischer Ausmessung elektronenoptischer Bilder bei 3 Schockpatienten, die ihr Schockereignis 21, 32 und 64 Tage überlebten, eine Epithelverbreiterung auf das 4.5fache, eine Zunahme des Interstitiums auf das 3-7fache und eine Verdoppelung der Endothelzellagendicke, wobei sie die enorme Verbreiterung des Interstitiums gleichermaßen auf das Lungenödem und die Proliferation von Zellen und Bindegewebsablagerung zurückführen. Diese Befunde wurden in der Folgezeit von mehreren Arbeitsgruppen ergänzt und bestätigt (RIEDE

et al., 1979 (131); PIETRA et al., 1981 (119)). Die Bedeutung der interstitiellen Lungenfibrose und ihre Zunahme im Sektionsgut obduzierter Schockpatienten wird von LAMY et al. (1976 (72)) hervorgehoben und mit der klinischen Schwere des Verlaufes korreliert. Dieselben Autoren beschreiben auch anhand eines Verlaufes von 2 Biopsien sowie von autoptisch gewonnenem Gewebe eines Patienten die Progredienz der fibrotischen Gewebsveränderung. MITTERMAYER et al. (97) heben 1977 hervor, daß proliferative interstitielle Fibroblastenvermehrung bereits wenige Tage nach Eintritt des schockauslösenden Ereignisses eintritt, wobei elektronenoptisch sichtbare Volumen- und Oberflächenvergrößerungen der Fibroblasten als Zeichen gesteigerter Syntheseleistung aufzufassen sind. Dies ist der Beginn eines "totalen Umbaus der normalen Architektur der Lunge" (MITTERMAYER et al., 1977 (97)) bis schließlich ein "point of no return" (MITTERMAYER et al., 1979 (99)) erreicht ist. Dieses Endstadium der Schocklunge läßt sich nach unseren heutigen Beobachtungen folgendermaßen zusammenfassen: Makroskopisch sind in der Schocklunge im Spätstadium lufthaltige Strukturen nicht mehr zu erkennen. Die Lunge ist flüssigkeitsreich und düster blau-rot verfärbt. In weißlich-netzigen Strukturen stellen sich die verbreiterten Septen der sekundären Lobuli dar (MITTERMAYER et al., 1979 (99)). Die Konsistenz ist fleischartig (SANDRITTER et al. 1978 (141)). Wie anhand des eigenen Krankengutes in Abb. 6 histologisch dargestellt ist, ist für die Lungen der Spätfälle eine Verbreiterung und Fibrosierung des Lungeninterstitiums typisch. Dieser Prozess scheint sich histologisch vom extra-alveolären Interstitium (broncho-vaskuläres Bindegewebe) auf das interalveoläre Interstitium (Alveolarsepten) auszudehnen. Die Mikrothrombosierung der Gefäße sowie die hyalinen Membranen können ebenso wie Teillatektasen bis in die Spätphase persistieren (RIEDE

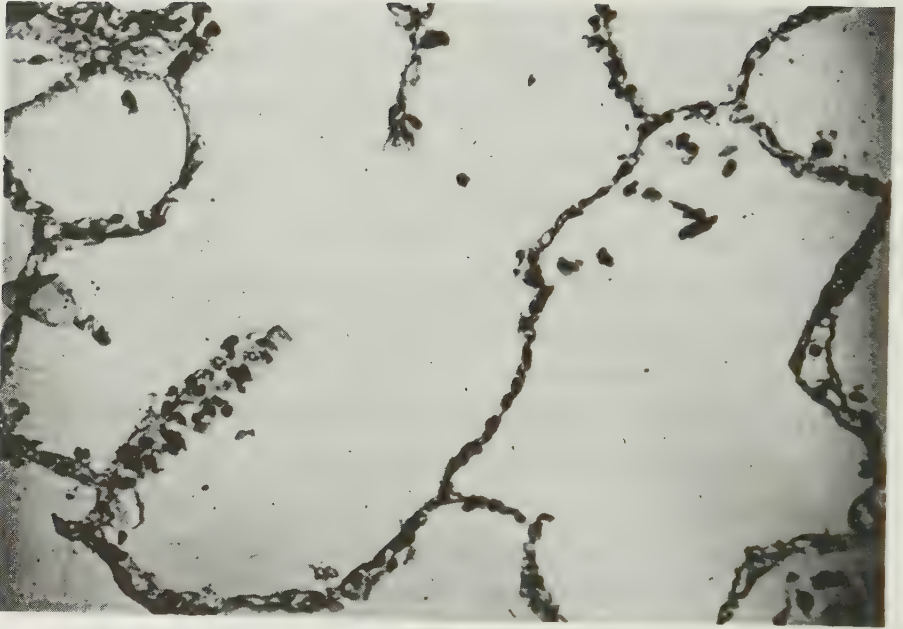


Abb. 6a Normale Lunge (Masson Trichrome, Original x 160)

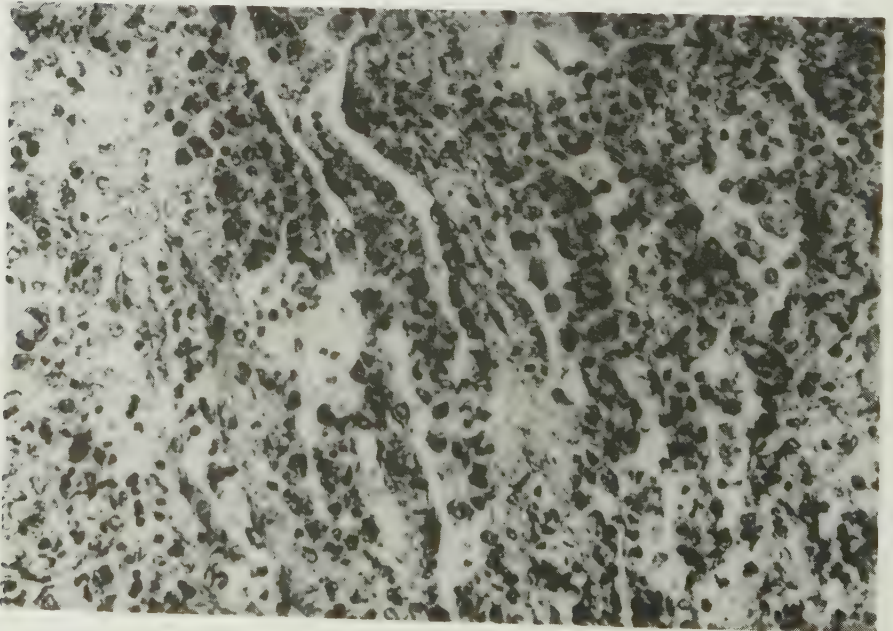


Abb. 6b Schocklunge im Spätstadium (29 Tage nach Unfall)
(Masson Trichrome, Original x 200)

et al., 1980 (133)).

Ultrastrukturell scheint zunächst eine Zellregeneration von Kapillarendothelien und Alveolarepithelien stattzufinden, die vor allem mit einer Hyperplasie granulärer Pneumozyten Typ II auftritt. Diese Pneumozyten Typ II erscheinen jedoch elektronenoptisch funktionsuntüchtig (RIEDE et al., 1979 (131)), was mit den beobachteten Störungen der Surfactantfunktion in Einklang zu bringen ist (von WICHERT, 1979 (164)). Gleichzeitig treten interstitielle Veränderungen auf: wie in Abb. 7 dargestellt, werden durch fibröses Material die Kapillaren von der Alveolaroberfläche abgedrängt und durch Fibroblasten und unregelmäßig angeordnete Kollagenfasern "eingemauert" (RIEDE et al., 1979 (131)). Dabei erscheint das Zytoplasma der Fibroblasten reichlich angefüllt mit Mikrofilamenten (Actin und Myosin), sodaß man vielfach von "Myofibroblasten" spricht (RIEDE et al., 1980 (133)). Zudem finden sich

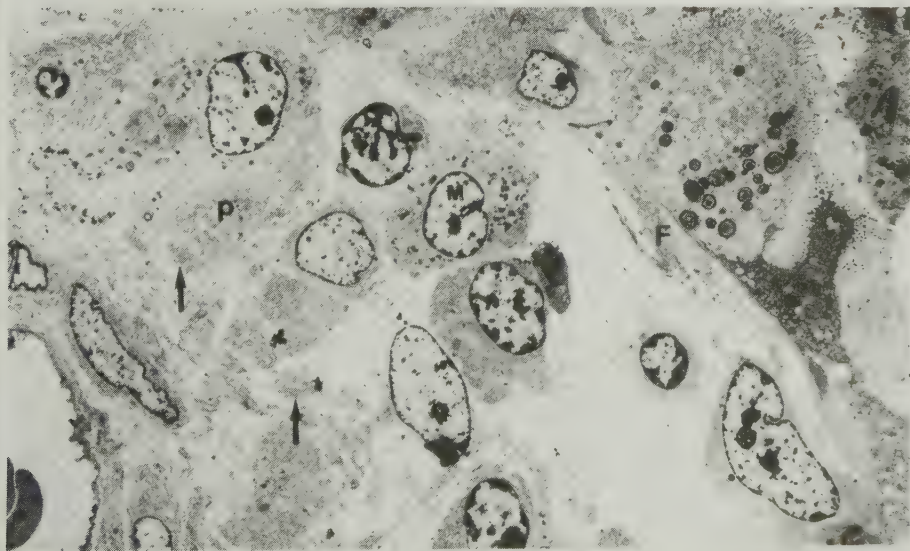


Abb. 7 Schocklunge im Spätstadium (29 Tage nach Unfall)
(Vergrößerung $\times 2200$; vgl. Abb. 2)

F = Fibroblast; M = Makrophage; P = Plasmazelle

↑ = Kollagenfasern

zahlreiche "Matrixvesikel" (RIEDE, 1981 (134)), die nach Beobachtungen von RIEDE und STAUBESAND (1977 (130)) lysosomale Enzyme enthalten und denen eine Rolle bei der Aufrechterhaltung chronischer Entzündungen zugeschrieben wird. Diese Matrixvesikel sind umgeben von neugebildeten Kollagenfasern und unregelmäßig angeordnetem, elastischem Material (RIEDE et al., 1979 (132)). Daneben wurden aber auch hier persistierende hyaline Membranen beschrieben, denen PORTE et al. (1978 (123)) einen Stimulations-effekt auf Fibroblasten zuschreibt.

Hinsichtlich des zeitlichen Beginns der Fibrosierung scheint in den letzten Jahren eine Veränderung eingetreten zu sein. Während MITTERMAYER et al. (1977 (97)) und JOACHIM et al. (1978 (62)) schon bei Überlebenszeiten von etwa 1 Woche an von histologisch feststellbaren Fibrosierungen berichten, beschreiben PIETRA et al. (1981 (119)) dies erst bei Patienten mit einer Überlebenszeit von mehr als 3 Wochen.

3. Aufgabenstellung

Das protrahierte, respiratorische Versagen nach schwerem Schock und Trauma besitzt derzeit eine große klinische Bedeutung, die in Zukunft wohl durch eine Verlängerung der Überlebenszeit noch zunehmen wird. Bisherige klinische und pathologisch-anatomische Befunde konnten neben einem beträchtlichen Lungenödem einen zunehmenden Gewebsumbau im Sinne einer Fibrosierung mit progredienter und therapierefraktärer Diffusionsstörung nachweisen. Dennoch bleiben zahlreiche Fragen nach quantitativem Ausmaß, Beginn und Progredienz wie auch nach der Prognose bzw. Reversibilität des Krankheitsbildes offen.

Ziel der vorliegenden Arbeit sollte es sein, mit biochemischen Methoden quantitative Gewebsveränderungen in der posttraumatischen Schocklunge zu untersuchen.

Dabei sollten

- 1.) neben Veränderungen in den basalen Meßgrößen wie Lungengewichte und Verschiebungen zwischen Flüssigkeits- und Gewebskompartimenten und deren qualitative Änderungen,
- 2.) die Veränderungen von Protein-, DNS-, RNS- und Bindegewebskonzentration und -gehalt im Lungengewebe analysiert werden,
- 3.) eine Aussage hinsichtlich des biochemisch feststellbaren Fibrosebeginns getroffen werden und
- 4.) in einer weitergehenden Analyse auch die Veränderungen der molekularen Zusammensetzung des Kollagens als Hauptbindegewebsprotein der Lunge erfaßt werden.

4. E r g e b n i s s e

4.1. Methodische Überprüfungen

4.1.1. Vergleich verschiedener Gewebsentnahmearten (vgl. 7.3.3.)

In Vorexperimenten untersuchten wir verschiedene Gewebsentnahmearten in Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Wie in Tab. 9 dargestellt ist, war die Übereinstimmung zwischen allen 3 getesteten Entnahmearten recht groß. So lag der Grad der Korrelation bei allen gemessenen Parametern über $r=0.75$. Desgleichen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Werte zwischen den Gruppen. Da die kombinierten Proben sowohl zu den Einzelproben als auch zum Gewebehomogenat eine enge Korrelation zeigten und da hierbei für eine ganze Reihe verschiedener Untersuchungen gleichwertiges Material zu Verfügung steht, entschieden wir uns zur ausschließlichen Verwendung der kombinierten Proben im Verlauf der Untersuchung. Dabei wurden pro Lungenlappen 15 solcher Proben getrennt analysiert (Gesamtzahl pro Patient $n=50-75$).

Tabelle 9

Korrelation der Ergebnisse verschiedener Ent-
nahmearten

	Feucht-/ Trockengew.	Gesamt- protein	D N A	R N A	Kollagen
Einzelproben/ kombinierte Proben	$r=0.88$	$r= 0.82$	$r=0.83$	$r=0.87$	$r=0.80$
kombinierte P./ Homogenat	$r=0.82$	$r= 0.79$	$r=0.80$	$r=0.81$	$r=0.84$
Homogenat / Einzelproben	$r=0.78$	$r=0.75$	$r=0.77$	$r=0.80$	$r=0.75$

4.1.2. Lungentrockengewichtsmessung (vgl. 7.3.2.)

Ein Vergleich zweier Lungentrockengewichtsmessungen zeigte ein hohes Maß an Übereinstimmung zwischen beiden Methoden. Es ergab sich dabei eine Korrelation von $r=0.95$ bei einer Regressionsgleichung von $y=4.5 + 0.7x$ (Abb. 8). Den Faktor 4.5 führen wir einen Wasserverlust auf/durch Sublimation während der Lagerung des Materials für die biochemische Analyse zurück. Wegen der einfacheren technischen Handhabung verwendeten wir im weiteren nur noch die Lyophilisation.

4.1.3. Proteinbestimmungsmethoden

Die Ergebnisse der Proteinbestimmungsmethode nach LOWRY et al. (1951 (79)) konnte mit der durch die Aminosäureanalyse ermittelten Gesamtproteinmenge verglichen werden. Dabei ergab sich eine Korrelation zwischen den beiden Methoden von $r=0.91$ mit einer Regressionsgleichung von $y=-130.4 + 1.3x$, sodaß eine gute Übereinstimmung zwischen beiden Methoden dokumentiert werden konnte (Abb. 9). Die höheren Werte der Aminosäureanalyse gegenüber der LOWRY-Methode könnten auf eine Miterfassung von Peptiden und freien Aminosäuren zurückzuführen sein.

4.1.4. Albuminbestimmungsmethode im Lungengewebe

Die Überprüfung der Extraktionsbedingungen für Albumin aus dem Gewebe ergab bei einer Homogenisierungszeit von 30 Sek. (10000 U/min.) eine nahezu vollständige Albuminextraktion ($98.5 \pm 2.1\%$) (Abb. 10a). Eine Zentrifugation des Homogenates bei $4500 \times g$ für 20 Min. konnte $98.2 \pm 5.2\%$ des Gesamtalbumins mobilisieren, wie aus Abb. 10b ersichtlich ist.

Eine zweimalige Rehomogenisierung des Niederschlages mit erneuter Albuminbestimmung im Überstand ergab in der 1. Waschflüssigkeit

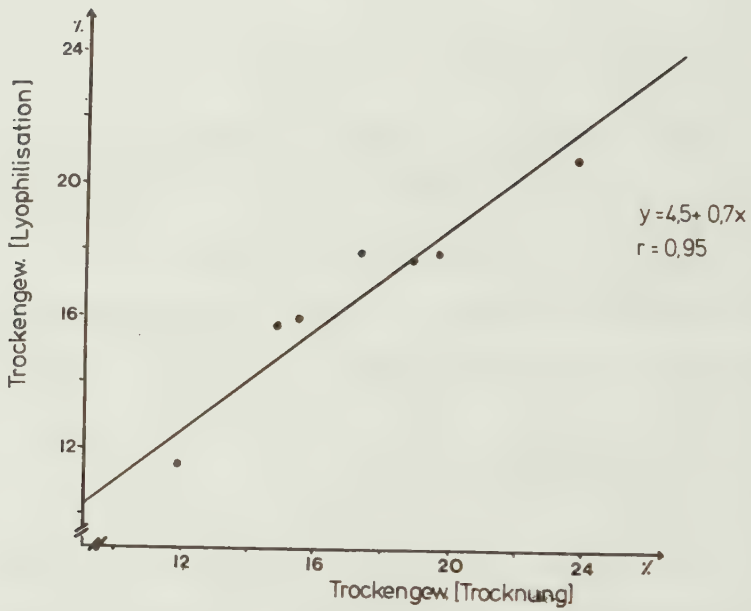


Abb. 8 Lungentrockengewichtsbestimmungen im Vergleich

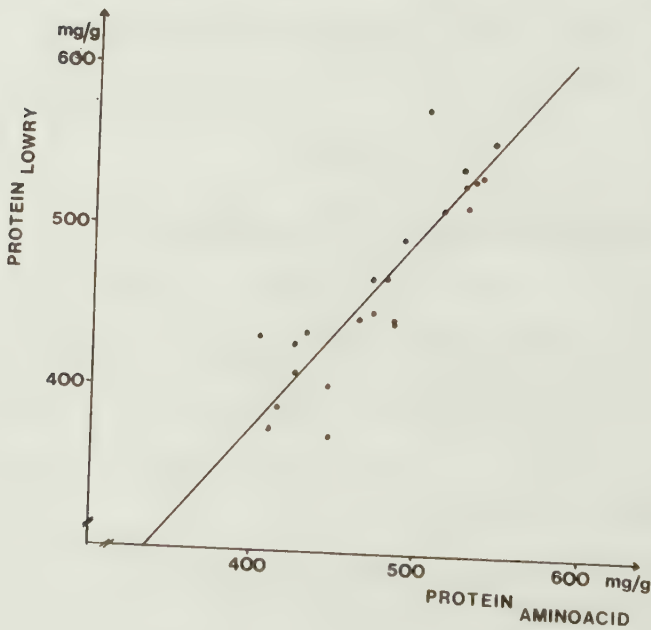


Abb. 9 Proteinbestimmungen

$7.9 \pm 4.4\%$, während in der 2. Waschflüssigkeit nur noch $4.2 \pm 3.6\%$ des Gesamtalbumins wiedergefunden werden konnten. Der erste Extraktionsschritt hatte bereits $88.7 \pm 3.9\%$ des Albumins in den Überstand gebracht (Abb. 11)

Desweiteren konnte kein signifikanter Einfluß verschiedener Gewebekomponenten, wie Kollagen, DNS und RNS und einer Lösung freier Aminosäuren, auf die reaktionsbedingte Extinktionsänderung gefunden werden. Ein möglicher Einfluß des Hämoglobins konnte ausgeschlossen werden, da in den vorliegenden Experimenten Hämoglobinkonzentrationen von weniger als 2 g/l vorlagen. Bis zu dieser Konzentration hatten BENG und LIM (1973 (6)) keine Interferenz des Hämoglobins auf die/Reaktion feststellen können. Desweiteren hatten in früheren Studien lipämische Trübung, Bilirubin und γ -Globuline keinerlei Beeinflussung der Bromkresolgrünreaktion gezeigt (WEBSTER, 1977 (168); GUSTAFSSON, 1976 (49); WESTGARD und POQUETTE, 1972 (173)). Der mögliche Einfluß von α -Globulinen auf die Reaktion konnte durch Begrenzung der Reaktionszeit auf weniger als 10 Sekunden vermieden werden (WEBSTER, 1977 (168); GUSTAFSSON, 1976 (49)).

Schließlich zeigte auch der in Abb. 12 dargestellte Vergleich der Ergebnisse der Bromkresolgrünmethode mit den Daten der quantitativen Immundiffusion ein hohes Maß an Übereinstimmung. Die Korrelation zwischen beiden Methoden lag bei $r=0.88$, die Regressionsgleichung lautete $y=20.6 + 0.75x$.

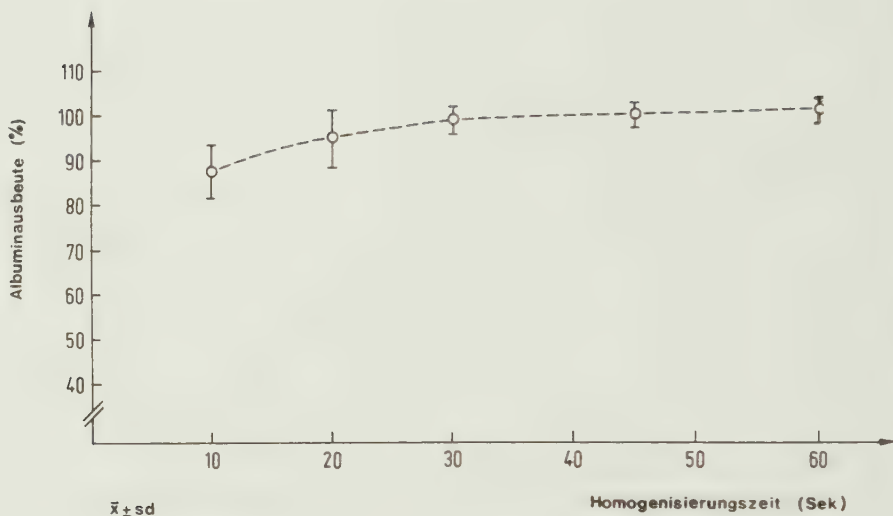


Abb. 10a Einfluß der Homogenisierungszeit auf die Albuminextraktionsrate

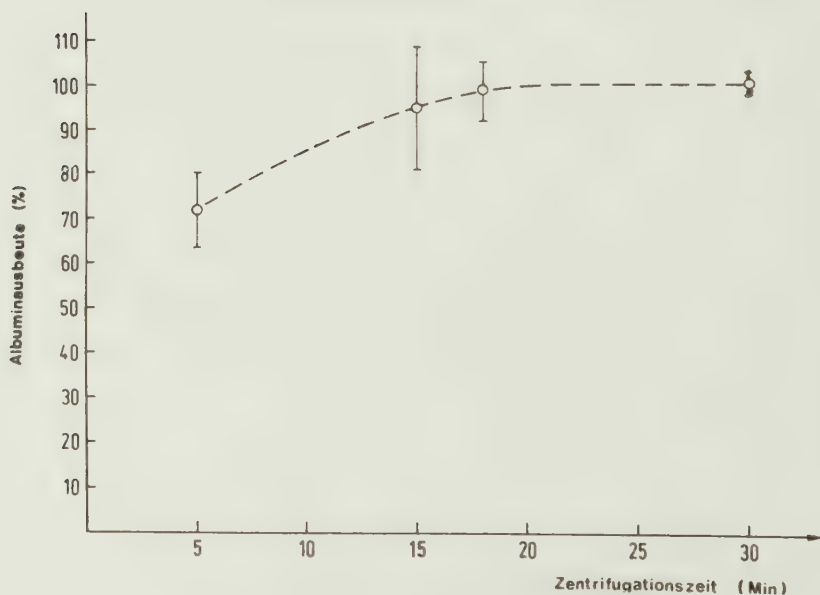


Abb. 10b Einfluß der Zentrifugationszeit auf die Albuminausbeute

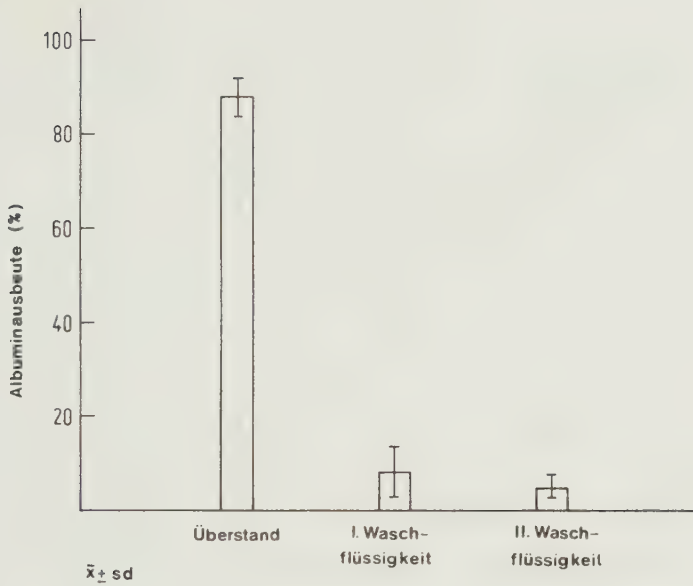


Abb. 11 Albuminextraktionsraten

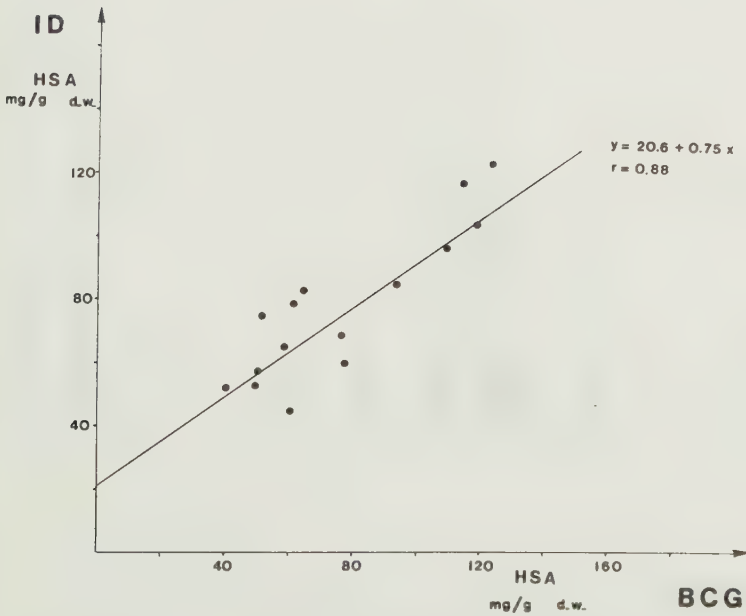


Abb. 12 Vergleich zwischen Bromkresolgrünmethode (BCG) und Immundiffusion (ID)

4.2. Veränderungen zwischen Flüssigkeits- und Gewebs- kompartimenten

4.2.1. Lungenfeucht- und -trockengewicht

Wie in Abb. 13 dargestellt, zeigten die Lungenfeuchtgewichte bei Patienten mit einer Überlebenszeit von 2 Wochen eine Zunahme der Werte um das 4fache der Kontrollgruppe, während diese Werte auch bei länger Überlebenden Patienten nicht weiter überschritten wurden (Korrelation zur Überlebenszeit: $r=0.69$). Demgegenüber nahmen die Lungentrockengewichte bei allen Patienten linear zur Überlebenszeit zu und erreichten dabei das maximal 5.5fache der Norm (Korrelation zur Überlebenszeit: $r=0.94$). Bedingt durch die unterschiedlichen Feucht- bzw. Trockengewichtszunahmen kam es

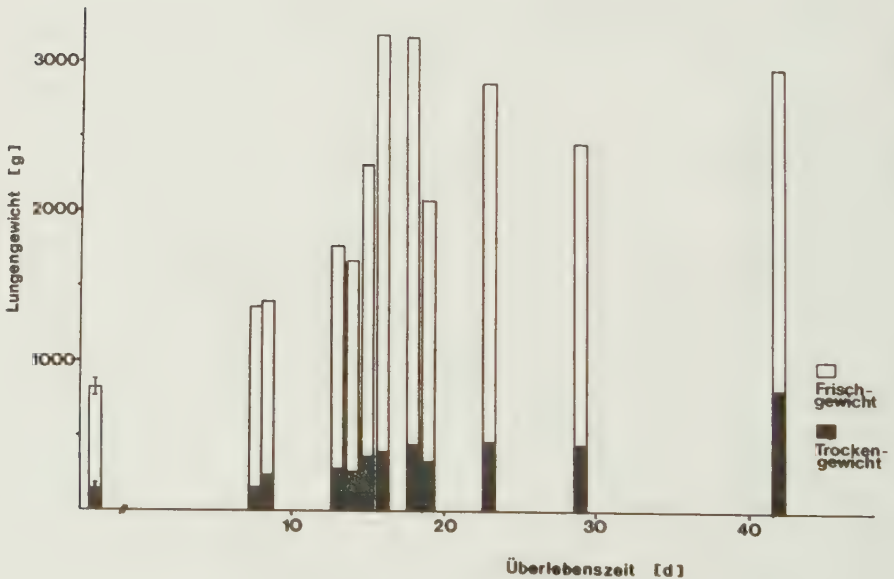


Abb. 13

Veränderungen der Lungengewichte bei 11 Patienten mit posttraumatischer Schocklunge

Lungengewichte

Pat. Nr.	Feucht- gewicht (g)	Trocken- gewicht (g)	blutfreies Trockengewicht (g)	Trocken- / Feucht- gewicht (%)
Kontrolle	803 ± 30	152 ± 9	121 ± 6	18.5 ± 1.4
1	1360	157	129	11.5
2	1390	235	177	16.9
3	1775	282	221	15.9
4	1660	262	208	15.8
5	2310	366	305	15.8
6	3190	398	297	12.5
7	3170	442	300	13.9
8	2095	326	260	15.8
9	2855	454	343	15.9
10	2430	436	332	17.9
11	2940	810	639	27.6

primär zu einem Anstieg des Feucht-/Trockengewichtsverhältnisses im Sinne eines Lungenödems. Im Spätstadium war, wie Tab. 10 zeigt, die Gewichtsrelation nahezu wieder ausgeglichen.

Da das Trockengewicht durch die quantitativ größten Blutproteinanteile Hämoglobin und Albumin beeinflusst wird, wurden diese Größen vom Trockengewicht abgezogen. Dadurch konnte ein genaueres Maß für die gewebsständigen Trockengewichtsveränderungen ermittelt werden. Auch hierbei zeigte sich eine lineare Zunahme der Werte bis zum maximal 5fachen der Norm in Abhängigkeit von der Überlebensdauer (Tab. 10).

4.2.2. Veränderungen von intrapulmonaler Blutmenge, extravaskulärem Lungenwasser und extravaskulärer Albuminmenge

Neben einer generellen Flüssigkeitszunahme der Lungen, ausgedrückt durch das gestiegene Lungenfeuchtgewicht, ließ sich auch eine Vermehrung des intrapulmonalen Hämoglobingehaltes in den pathologischen Organen und damit ein vermehrter intrapulmonaler Blutgehalt feststellen. Der intrapulmonale Blutgehalt der Patientenlungen lag dabei um durchschnittlich 270.1 % über der Norm, die bei 215 ml/Lunge lag. Tab. 11 zeigt gleichzeitig, daß ein zeitabhängiger Verlauf dieser Zunahme vorlag.

Die zugleich ermittelte Menge an extravaskulärem Lungenwasser (EVLW) in der Lungenperipherie ergab gleichfalls bei allen Patienten signifikant erhöhte Werte. Wie in Tab. 11 dargestellt ist, konnten Werte bis zu 1.9 l/Lunge festgestellt werden, jedoch ohne Zeitabhängigkeit der Veränderungen. Ein Vergleich der hier bestimmten EVLW-Werte, die aus methodischen Gründen auf die Lungenperipherie begrenzt sind, mit den klinisch intravital gemessenen Werten (vgl. Tab. 19) ergab eine Korrelation von $r=0.73$ bei einer

Tabelle 11

Intrapulmonales Blutvolumen und extravaskuläres Lungenwasser

Nr.	Hb-Gehalt (g)	Blutvol. (ml)	EVLW (ml)
Kontrolle ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)	21.1 $\pm$ 2.4	215 $\pm$ 34	477 $\pm$ 30
1	18.2	180	1040
2	41.8	418	780
3	32.2	314	1210
4	31.6	360	1070
5	68.7	366	1615
6	85.8	925	1953
7	85.4	914	1900
8	40.8	432	1350
9	70.8	763	1710
10	69.8	700	1365
11	102.4	1275	960

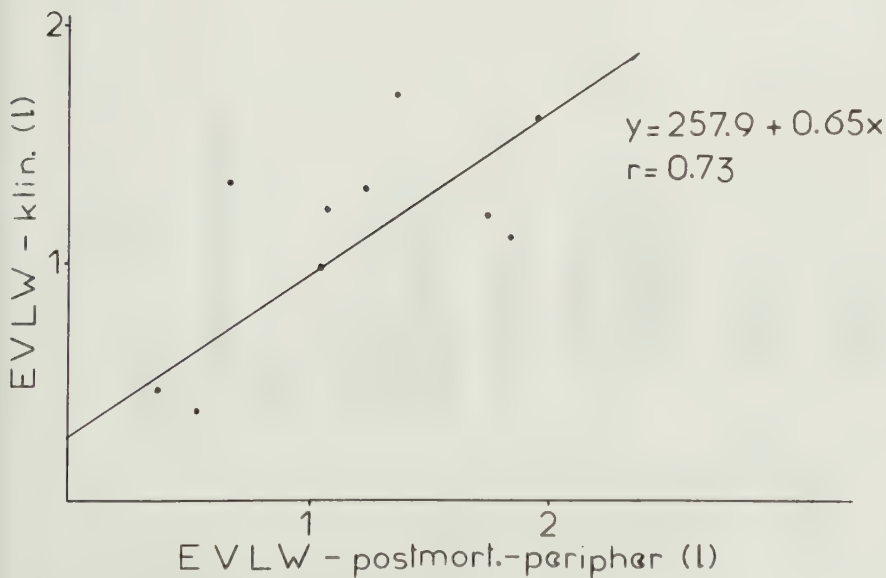


Abb. 14

Vergleich klinischer und postmortal, gravimetrischer EVLW-

Regressionsgleichung von $y=257.9 + 0.65x$. In Abb. 14 ist der Vergleich beider Meßergebnisse grafisch dargestellt.

Daneben konnte auch die Menge an Albumin im extravaskulären Bereich bestimmt werden (extravaskuläres Albumin), ein wichtiger Indikator für das Vorliegen einer Kapillarpermeabilitätsschadens. Die von uns analysierten Organe zeigten eine deutliche, lineare Zunahme des extravaskulären Albumingehaltes von normal 4.9 ± 1.9 g/Lunge auf Werte bis zu 37.1 g/Lunge (Abb. 15).

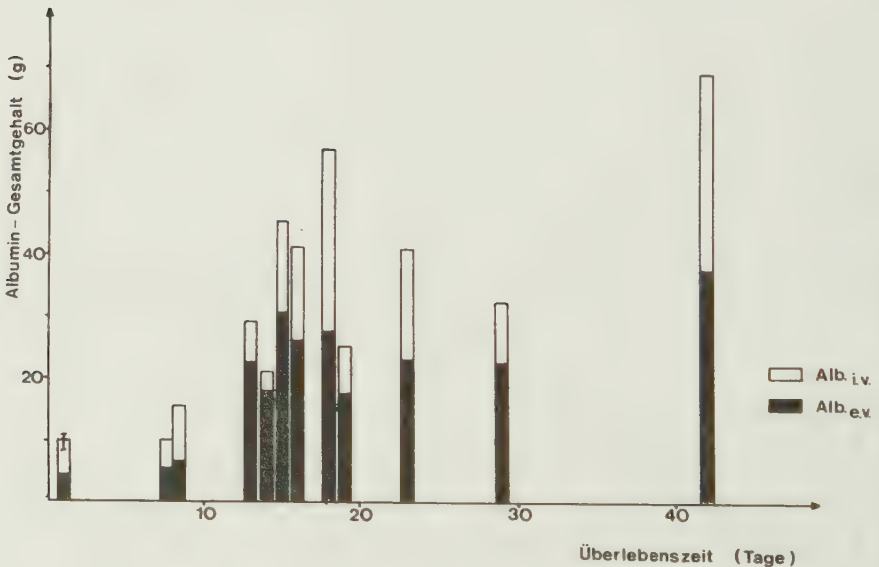


Abb. 15

Albuming Gesamtgehalte in Schocklungen

Alb_{i.v.} = intravaskuläres Albumin

Alb_{e.v.} = extravaskuläres Albumin

4.3. Veränderung der Gewebszusammensetzung

4.3.1. Protein

Etwa 40-45 % des normalen Lungentrockengewichtes besteht aus Protein (BRADLEY et al., 1974 (12); COLLINS und JONES, 1978 (26)). Es bildet somit die größte, chemisch abgrenzbare Einzelfraktion. Im pathologischen Zustand ließ sich eine Vermehrung der Proteinkonzentration auf 45-60 % des Trockengewichtes, im Mittel auf 52 % feststellen. Diese erhöhten Werte zeigten keine zeitabhängige Zunahme zur Überlebenszeit (Tab. 12). Die errechneten Gesamtproteingehalte pro Lunge ließen eine linear zeitabhängige Zunahme mit Maximalwerten bis zum 6fachen der Norm erkennen (Abb. 16).

Da die Meßgröße des Gesamtproteins aber auch nicht gewebständige

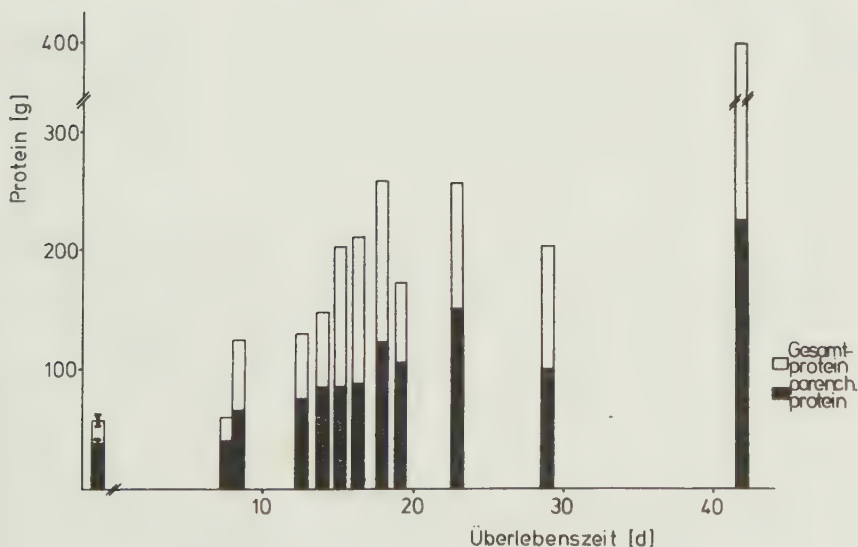


Abb. 16

Veränderung von Gesamtprotein und parenchymalem Protein in posttraumatischen Schocklungen

Tabelle 12

Lungengewebszusammensetzung - Konzentrationen

Patienten Nr.	Gesamtprotein- konzentration	D N A - Konzentration	R N A - Konzentration	Kollagen- konzentration	Elastin- konzentration
		(jeweils mg / g Trockengewicht)			
Kontrolle	425.5 ± 8.3	19.1 ± 1.2	19.6 ± 1.3	150.6 ± 24.9	27.2 ± 3.2
1	447.5 ± 24.0	16.9 ± 1.9	16.3 ± 1.9	85.3 ± 8.8	15.6 ± 2.5
2	529.3 ± 30.9	11.9 ± 0.6	14.6 ± 1.1	89.3 ± 11.2	25.1 ± 1.1
3	484.2 ± 16.6	10.6 ± 0.3	22.0 ± 0.9	75.3 ± 2.6	17.9 ± 1.4
4	543.9 ± 13.3	10.8 ± 0.4	27.4 ± 1.2	76.4 ± 3.4	17.9 ± 2.2
5	555.3 ± 25.6	10.5 ± 0.9	21.2 ± 0.8	34.4 ± 1.9	8.1 ± 0.2
6	547.8 ± 17.0	11.6 ± 0.2	18.9 ± 0.9	75.6 ± 7.4	11.0 ± 1.1
7	597.4 ± 10.7	9.4 ± 0.3	17.3 ± 0.8	57.3 ± 4.4	11.1 ± 0.4
8	524.4 ± 23.4	11.5 ± 0.9	19.2 ± 1.2	71.5 ± 4.3	19.0 ± 0.9
9	576.3 ± 18.6	10.1 ± 0.3	24.0 ± 2.6	78.9 ± 4.1	12.9 ± 1.2
10	467.6 ± 11.8	11.5 ± 0.4	30.5 ± 0.5	129.2 ± 5.4	17.0 ± 1.6
11	488.9 ± 13.5	11.4 ± 0.6	24.1 ± 1.9	123.6 ± 11.7	18.4 ± 2.3

1 50 1

Parenchymales Protein

Patient Nr.	Gesamtprotein- gehalt (g)	Hb- Gehalt (g)	Albumin- Gehalt (g)	parenchymaler Proteingehalt (g)
Kontrolle	64.9 ± 2.2	21.1 ± 2.4	10.0 ± 0.9	33.8 ± 2.7
1	70.3	18.2	10.2	41.9
2	124.4	41.8	16.2	66.4
3	136.5	32.2	28.3	76.0
4	142.5	31.6	22.7	88.2
5	203.2	68.7	45.5	89.2
6	218.0	85.8	42.4	89.8
7	264.1	85.4	56.5	122.2
8	170.9	40.8	25.4	104.7
9	261.6	70.8	40.5	150.3
10	203.9	69.8	34.2	99.9
11	396.1	102.4	68.7	225.0

 $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Proteine, wie Serumproteine, mitbeinhaltet, war eine Korrektur dieser Werte nötig. Als quantitativ größte Blutproteinanteile wurden der Hämoglobin- und der Albumingehalt verwendet, zumal in den pathologischen Lungen durch Faktoren wie Kongestion und interstitielles Ödem erhöhte Werte für beide Faktoren erwartet werden konnten. Neben den hierbei ermittelten Werten eines erhöhten parenchymalen Proteingehaltes in der Patientengruppe bis zum 6.5fachen der Norm (Abb. 16) war auch eine bessere Korrelation des korrigierten Proteingehaltes gegenüber dem Gesamtprotein-gehalt zur Überlebenszeit zu vermerken ($r=0.92$ gegenüber $r=0.89$). Die einzelnen Werte des so korrigierten Proteingehaltes und ihre Korrekturfaktoren sind in Tab. 13 wiedergegeben.

4.3.2. DNS und RNS

Die Menge an DNS spiegelt die Zellzahl des Gewebes wieder, wobei jedoch eine Differenzierung hinsichtlich der Zellart nicht möglich ist. Die DNS-Konzentration zeigte bei allen Patienten deutliche und signifikant erniedrigte Werte ohne Abhängigkeit von der Überlebenszeit (Tab. 12). Demgegenüber ließ sich jedoch beim DNS-Gesamtgehalt pro Lunge eine Zunahme bis zum 3.5fachen der Kontrollen feststellen (Abb. 17), wobei sich zwischen beiden Kollektiven ein Signifikanzniveau von $p < 0.02$ ergab. Patienten, die eine Überlebenszeit von mehr als 2 Wochen aufwiesen, hatten dabei hochsignifikant verschiedene Werte zur Kontrollgruppe ($p < 0.01$), während Unfallopfer mit einer Überlebenszeit von weniger als 3 Wochen keine signifikante Abweichung vom Kontrollkollektiv erkennen ließen ($p > 0.45$).

Die RNS-Konzentration als Hinweis auf die proteinbiosynthetische Leistungsfähigkeit der Zellen, zeigte bei der Patientengruppe

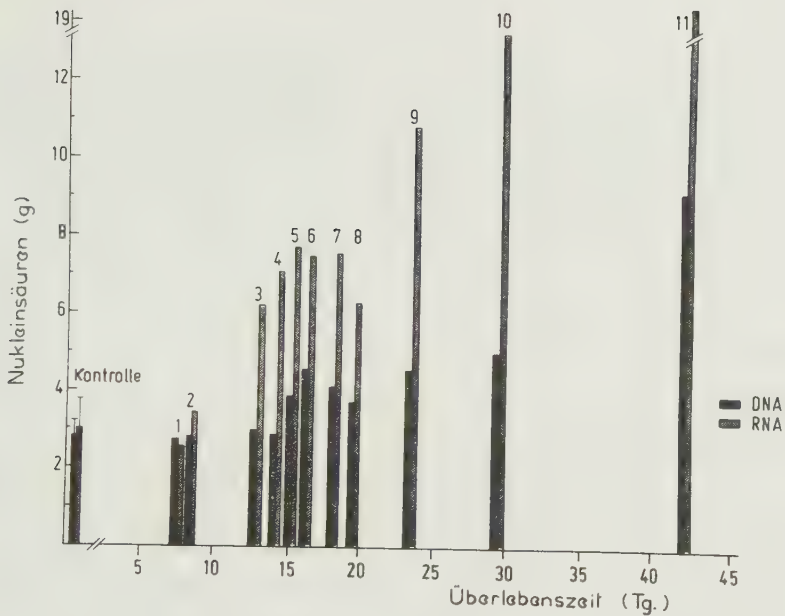


Abb. 17 Veränderungen der DNS- und RNS-Gehalte in posttraumatischen Schocklungen

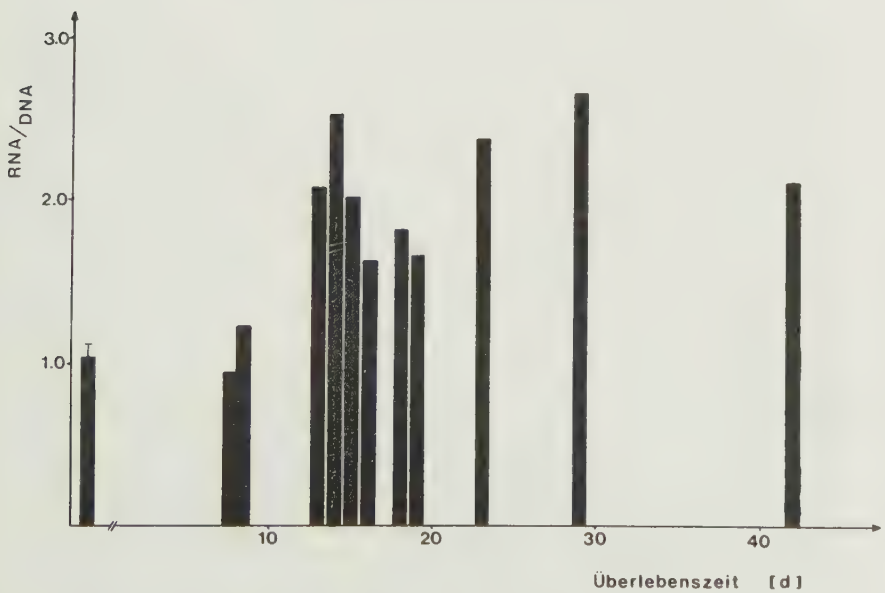


Abb. 18 Veränderungen des Quotienten RNS/DNS in Lungen von posttraumatischen Schockpatienten

eine leichte, nicht signifikante Zunahme der Werte (Tab. 12). Der RNS-Gesamtgehalt der Lungen hingegen ließ eine hochsignifikante und von der Überlebenszeit linear abhängige Steigerung bis zu Maximalwerten von 19.5 g/Lunge (6.5faches der Norm) feststellen (Abb. 17). Hierbei waren, im Gegensatz zum DNS-Gehalt, bereits bei früh verstorbenen Patienten erhöhte Werte erkennbar.

Demgemäß ließ sich ein Anstieg des Quotienten von RNS/DNS von normal 1.05 : 1 auf durchschnittlich 1.95 : 1 im Patientenkollektiv feststellen. Die Zunahme dieses Indexes für die proteinbiosynthetische Leistungsfähigkeit pro Zelle ergab eine initiale schnelle Steigerung, während innerhalb der Patientengruppe keine Abhängigkeit zur Überlebenszeit erkennbar war (Abb. 18).

4.3.3. Kollagen und Elastin

Da histologische Beobachtungen eine Bindegewebsvermehrung in den pathologischen Organen hervorgehoben hatten, sollten die beiden Hauptanteile der bindegewebigen Matrix, Kollagen und Elastin, analysiert werden. Bei Patienten mit einer Überlebenszeit von weniger als 3 Wochen konnte eine Halbierung der Kollagenkonzentration von 151 mg/g Trockengewicht auf Werte zwischen 34-89 mg/g Trockengewicht gefunden werden. Je länger die Patienten jedoch überlebten, desto mehr näherten sich die Konzentrationswerte denen der Kontrollgruppe an (Tab. 12). So zeigten sich bei den beiden am längsten Überlebenden Kollagenkonzentrationen ähnlich denen der Kontrolle. Der Kollagengesamtgehalt der Organe ließ dabei ein ähnliches Zeitverhältnis erkennen, wie der DNS-Gesamtgehalt. Während bei Überlebenszeiten bis zu 3 Wochen keine Vermehrung festzustellen war, stieg der Kollagengesamtgehalt bei länger Über-

lebenden linear bis zum 4.5fachen der Norm an (Abb. 19). So war auch das Signifikanzniveau zwischen Kontrollen und Überlebenden bis zu 3 Wochen mit $p > 0.30$ als "nicht signifikant", bei länger überlebenden Patienten mit $p < 0.04$ jedoch als signifikant verschieden zu bewerten.

Ähnliche Veränderungen zeigte auch die Bestimmung des als alkaliunlöslichen Proteinteil bezeichnete Elastin. Auch hier ergab sich ein initialer Abfall der Elastin-Konzentration gegenüber den Kontrollen, während mit steigender Überlebenszeit die Konzentration sich den Werten der Kontrollgruppe näherte (Tab. 12). Auch beim Elastingesamtgehalt zeigte sich eine anfängliche "stationäre" Phase ohne signifikante Veränderung der Werte, bei Patienten mit einer Überlebenszeit von mehr als 3 Wochen ließ sich jedoch eine deutliche Zunahme bis maximal zum 3fachen der Kontrollgruppe feststellen (Abb. 19).

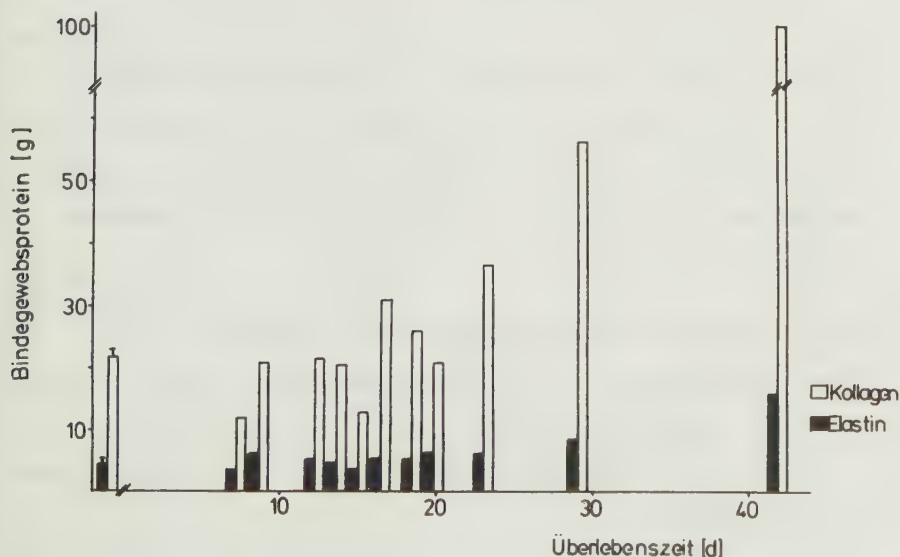


Abb. 19

Kollagen- und Elastingehalte in Lungen im posttraumatischen Lungenversagen

4.4. Charakterisierung des Kollagens bei biochemisch nachgewiesener Kollagenvermehrung

Anhand von Lungengewebe von 5 Patienten mit biochemisch nachgewiesener Kollagenvermehrung sollte die Zusammensetzung und Struktur eines solch fibrotischen Gewebes näher charakterisiert werden.

4.4.1. Löslichkeit von Gewebe und Kollagen

Nach dreimaligem Pepsinabbau konnte im Kontrollmaterial eine Gewebsmenge von 37.2 ± 5.8 % des Gesamtgewebes als Pepsin resistentes Material gewonnen werden. Wie aus Tab. 14 ersichtlich ist, lag in der Patientengruppe mit 20.5 ± 2.2 % des gesamten Gewebes dieser Anteil niedriger.

Die Löslichkeit des Kollagens in Patientenlungen war ebenfalls deutlich verändert. So konnten unter sauren Bedingungen 4.5 ± 0.4 % des Gesamtkollagens in den pathologischen Lungen, dagegen nur 2.7 ± 0.5 % im Normalgewebe in Lösung gebracht werden. Auch bei dem Pepsin löslichen Kollagen war die Extraktionsrate mit 53.6 ± 3.3 % des Gesamtkollagens in den Patientenlungen gegenüber nur 32.7 ± 1.8 % in den Kontrolllungen deutlich erhöht (Tab. 14).

4.4.2. Verhältnis von $\alpha 1(I)$ - zu $\alpha 2(I)$ -Kette

Die elektrophoretische Kollagenkettentrennung, in Abb. 20 dargestellt, ergab ein Verhältnis von $\alpha 1(I)$ - zu $\alpha 2(I)$ -Ketten von 2.2 ± 0.3 bei den Kontrollen und 2.1 ± 0.2 in den Patientenlungen (Tab. 15).

Tabelle 14

Löslichkeit von Gewebe und Kollagen

Nr.	Pepsin resist. Gewebe (%) ,	0.5% Essigsäure lösl. Kollagen (%)	Pepsin lösl. Kollagen (%)
-----	--------------------------------	---------------------------------------	------------------------------

Kontrolle	37.2 $\pm$ 5.8	2.7 $\pm$ 0.5	32.7 $\pm$ 1.8
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)			

6	17.3	4.1	49.8
---	------	-----	------

7	16.7	3.8	52.6
---	------	-----	------

8	17.4	4.1	47.9
---	------	-----	------

9	23.2	6.0	66.3
---	------	-----	------

10	27.9	4.5	51.2
----	------	-----	------

Tabelle 15

Kollagenkettenverhältnis und Verhältnis von Kollagen Typ I/III

Nr.	$\alpha 1(I)$ - : $\alpha 2(I)$ -Kette	Kollagen Typ III/I (%)
-----	--	---------------------------

Kontrolle	2.2 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 1.0
($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$)		

6	1.8	21.2
---	-----	------

7	2.9	23.8
---	-----	------

8	1.8	22.7
---	-----	------

9	1.9	21.2
---	-----	------

10	2.3	25.4
----	-----	------



Abb. 20

SDS Polyacrylamid-Gelelektrophorese

(1) Standard; (2) ARDS-Lunge, Pat. 10, nicht reduziert;
(3) ARDS-Lunge, Pat. 10, reduziert; (4) Kontrolle, nicht
reduziert; (5) Kontrolle, reduziert;

4.4.3. Verhältnis von Kollagen Typ I zu Typ III

Die Menge an Kollagen Typ III, die durch Pepsinbehandlung in Lösung gebracht werden konnte, zeigte im Patientengewebe mit $22.9 \pm 0.8 \%$ einen deutlich höheren Anteil am interstitiellen Kollagen als bei den Kontrollen mit $17.5 \pm 1.0 \%$ (Tab. 15).

4.4.4. Aminosäurezusammensetzung des Kollagens

Die Aminosäureanalyse des gesamten löslichen Kollagens ergab für die einzelnen Aminosäuren vergleichbare Ergebnisse in Patienten- wie auch Kontrollungen. Insbesondere bei der Hydroxylierung des Prolins konnte zwischen Patientengruppe mit $47.5 \pm 0.6\%$ und der

Tabelle 16

Aminosäurezusammensetzung des gesamten löslichen Kollagens

Aminosäure	Kontrolle	W.S. (6)	J.L. (7)	E.P. (8)	M.U. (9)	E.C. (10)
Hydroxyprolin	105.9	90.2	105.0	96.6	95.7	120.1
Asparagin	54.8	53.9	60.4	49.9	50.9	49.5
Threonin	22.2	26.7	32.8	28.6	27.1	18.6
Serin	30.4	30.7	32.7	31.9	55.5	33.5
Glutamin	86.7	84.3	86.1	79.6	83.4	79.6
Prolin	112.5	106.9	107.7	105.9	110.7	127.0
Glycin	260.9	286.7	301.6	280.8	306.9	275.6
Alanin	84.4	92.8	73.7	85.4	104.4	107.9
Valin	27.7	30.4	26.8	28.6	16.7	19.7
Methionin	6.4	9.3	3.9	6.4	6.2	5.1
Isoleucin	23.7	15.7	17.1	27.2	15.5	16.2
Leucin	42.2	34.5	30.7	35.9	30.5	30.5
Tyrosin	7.8	7.4	2.9	2.8	3.9	4.5
Phenylalanin	20.8	8.5	13.1	22.5	12.9	13.7
Histidin	9.1	15.3	9.0	10.5	9.8	7.3
Hydroxylysin	24.0	11.3	15.2	11.4	8.1	13.6
Lysin	29.5	40.6	30.7	25.7	19.3	27.4
Arginin	51.0	54.8	59.6	58.7	42.3	50.2
Hydroxyprolin (%)	48.4 + 0.3	45.8	48.9	47.7	46.4	48.6
Hydroxylysin (%)	44.8 + 3.4	21.8	33.1	30.7	29.6	32.2

Kontrollgruppe mit 48.4 ± 0.3 % kein Unterschied in der Prolinhydroxylierung festgestellt werden. Demgegenüber konnte jedoch eine geringere Hydroxylierung des Lysins im Patientengewebe ($29.5 \pm 2.0\%$) als in normalem Lungengewebe (44.8 ± 3.4 %) gefunden werden (Tab. 16).

Nach säulenchromatographischer Trennung in Typ I und III Kollagen ergab die Aminosäureanalyse bei beiden Kollagentypen wiederum gut vergleichbare Werte, es zeigte sich jedoch auch hier ^{des Lysins} eine deutliche Unterhydroxylierung von Typ I und III Kollagen gleichermaßen im Patientengewebe. (Tab. 17).

Tabelle 17

Aminosäurezusammensetzung der interstitiellen
Kollagentypen

Nr.	% Hydroxyprolin		% Hydroxylysin	
	Typ I	Typ III	Typ I	Typ III
Kontrolle ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)	49.2 ± 2.1	51.0 ± 3.3	36.3 ± 1.9	43.0 ± 3.1
6	50.3	50.9	31.3	37.2
7	48.2	56.7	30.2	30.9
8	46.3	55.4	27.9	31.8
9	41.7	51.3	28.8	36.9
10	46.7	51.4	30.4	34.8

4.5. Immunhistologische Gewebslokalisation von Kollagen Typ I, III und IV

Mit Hilfe kollagentypenspezifischer Antikörper sollte eine Aussage über die Lokalisation der verschiedenen Kollagentypen im Gewebe getroffen werden. In den Kontrollungen zeigte die Anfärbung mit anti-Kollagen Typ I Antikörpern eine typische interstitielle Anordnung, die diesen Kollagentyp als "Rückgrat" der interalveolaren Septen erscheinen läßt (Abb. 21a). Die dabei in spitzem Winkel zur Schnittebene getroffenen dicken Faserbündel aus Typ I Kollagen scheinen als "Scherengitter" die Inter-alveolarwand zu durchziehen und somit wie mit einem Drahtkorb die Alveolarsepten zu stabilisieren. Demgegenüber zeigte eine Anfärbung normalen Lungengewebes mit anti- Kollagen Typ III Antikörpern eine feine, mehr retikuläre Anordnung, die vor allem die Alveolen begrenzt, kleine Blutgefäße einschneidet, aber auch größere Faserbündel begleitet (Abb. 21b). Die Lokalisation von Typ IV Kollagen entspricht der erwarteten perialveolären Anordnung, die Strukturen mit Basalmembranen entspricht (Abb. 21c).

Im Gegensatz hierzu zeigte eine kollagentypenspezifische Anfärbung von pathologischem Lungengewebe eine vollkommene Auflösung des Kollagen Typ I- "Scherengitter"-Musters mit einer diffus zerstreuten Anfärbbarkeit für diesen Kollagentyp (Abb. 22a). Fokal ergab sich eine intensive Anfärbbarkeit für Kollagen Typ I, die stärker als in Normalgewebe erschien. Dies konnte jedoch nicht über der gesamten Untersuchungsfläche nachgewiesen werden. Typ III Kollagen erschien in den Schocklungen nur noch als feiner perialveolärer Randsaum mit stark verminderter An-

Kollagentypenanordnung in normalem Lungengewebe

(A) Kollagen Typ I;

(B) Kollagen Typ III;

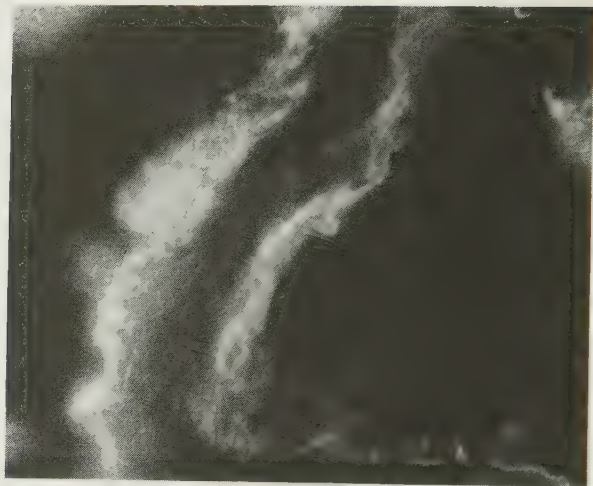
(C) Kollagen Typ IV;



A



B



C

färbbarkeit im interstitiellen Bereich. Es ließ sich somit eher eine relative Verminderung des Kollagen Typ III Gehaltes im Vergleich zu Normallungen feststellen (Abb. 22b). Auch die mit anti-Kollagen Typ IV angefärbten Basalmembranstrukturen schienen im pathologischen Zustand vermindert (Abb. 22c).

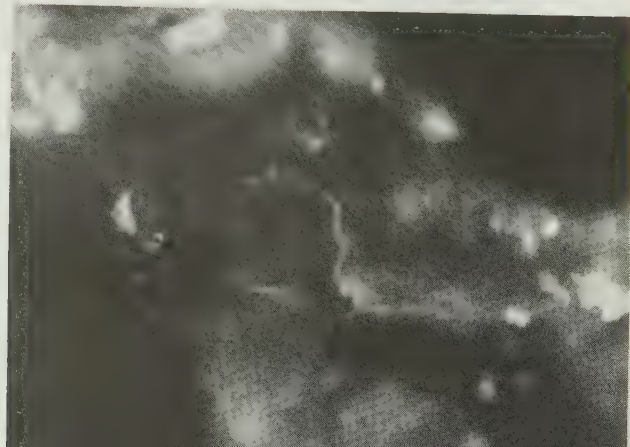
Abb. 22

Kollagentypenanordnung in Schocklungengewebe

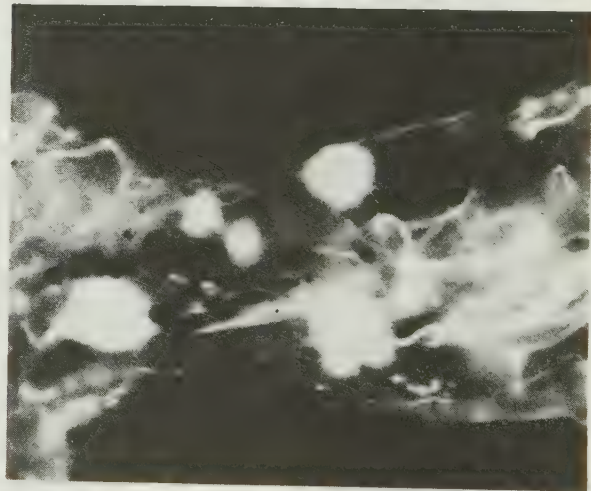
(A) Kollagen Typ I;

(B) Kollagen Typ III;

(C) Kollagen Typ IV;



A



B



C

5. Diskussion

5.1. Bedeutung der akuten Lungenfibrose nach Schock und Trauma

Auch heute noch sind Schock und Trauma und die in ihrem Gefolge auftretenden Komplikationen von erheblicher klinischer Bedeutung. Zwar konnten therapeutische Weiterentwicklungen, wie schneller Volumenersatz und künstliche Beatmung, die früher nahezu infauste Prognose des Schocks erheblich verbessern, doch ist durch Faktoren, wie gestiegene Verkehrsunfallzahlen und Zunahme der Verletzungsschwere, die Anzahl der "Schockpatienten" in den letzten Jahren kontinuierlich gestiegen. Der besonders tragische Aspekt an dieser Entwicklung ist die überproportionale Beteiligung jüngerer Bevölkerungsschichten.

Obwohl heute die Mehrzahl der Schockpatienten die initiale Hypovolämie und Hypoxämie überleben, hat sich im Gefolge von schwerem Schock und Trauma ein Multiorganversagen entwickelt, das in einer immer noch hohen Zahl der Fälle letal endet. Der Mechanismus der Entstehung dieser schockbedingten "Spät"veränderungen ist noch weitgehend ungeklärt. Die Lungenschädigung nach Schock und Trauma stellt hierbei heute den "lebensbegrenzenden Faktor" innerhalb des protrahierten Multiorganversagens dar (SANDRITTER et al., 1978 (141)). Klinische und morphologische Befunde lassen jedoch auch innerhalb des Lungenversagens einen steten Wandel erkennen. Dem früher vorherrschenden, interstitiellen Ödem z.T. extremen Ausmaßes ist ein gewebsreaktiver, proliferativer Prozeß mit Vermehrung der Gewebesubstanz gefolgt, dem eine wachsende Bedeutung auf dem letalen Ausgang der Krankheit zugemessen wird. Darüberhinaus konnte aus seriellen Lungengewebsentnahmen eine zeitab-

hängige Progredienz der Veränderungen demonstriert werden (LAMY et al., 1976 (72); RIEDE et al., 1979 (131). Wichtige klinische Parameter der Lungenfunktion - wie eine fortschreitende Abnahme der Lungendehnbarkeit - und der Gasaustauschfunktion mit hochgradiger, therapieresistenter Hypoxie und verminderter Diffusionskapazität zeigen ebenfalls eine Progredienz der Verschlechterung.

Besonderes Augenmerk ist durch zahlreiche morphologische Untersuchungen auf das Lungenbindegewebe gerichtet worden. Die daher rührende Feststellung einer interstitiellen Fibrose mit drastischer Zunahme vor allem kollagener Fasern beherrscht heute das pathologisch-anatomische Bild der Lunge im protrahierten, respiratorischen Versagen. Bislang sind durch morphologische Analysen folgende qualitativen Aspekte ermittelt worden:

Neben einer starken Substanzvermehrung auf Kosten der belüfteten Fläche fallen besonders der Reichtum an interstitiellen Zellen und die Ablagerung vornehmlich kollagener Matrix perizellulär auf (RIEDE et al., 1980 (133); PORTE et al., 1978 (123); SCHLAG und REDL, 1982 (145)). Quantitative Berechnungen mit morphometrischen Mitteln verzeichneten ebenfalls eine deutliche, quantitative Zunahme im interstitiellen Bereich (BACHOFEN und WEIBEL, 1974 (3); RIDE et al., 1980 (133)).

Der biochemische Aspekt der Gewebszusammensetzung dieser Art von Lungenfibrose ist bislang nur durch eine Arbeitsgruppe verfolgt worden. ZAPOL et al. (1979 (176)) fanden in den Lungen von Patienten mit akutem Lungenversagen verschiedener Ursache eine linear zeitabhängige Zunahme des Lungengesamtkollagens bis zum 6fachen seiner Kontrollen. Wie von FISHMAN (1973 (40)) und

DEMLING (1980 (33)) diskutiert, ergibt sich jedoch die Frage, ob verschiedene Ursachen des Lungenversagens auch ein gemeinsames Schädigungs- und Ausprägungsmuster haben. Darüberhinaus scheint auch die Bestimmung weiterer Gewebskomponenten als sinnvoll, um die postulierte Lungenbindegewebsvermehrung in Relation zur Gesamtveränderung einstufen zu können.

5.2. Versuchsansatz und Methodik

Zu diesem Zweck wurde eine Gruppe junger, vor ihrem Unfall gesunder Unfallpatienten mit klar definiertem, massivem systemischen Trauma und ausgeprägtem hämorrhagisch-hypovolämischem Schock jedoch ohne direkte Lungenbeteiligung ausgewählt. Dadurch konnten Störfaktoren auf die Ergebnisse, wie Alter der Patienten oder Schockursache, von vornherein ausgeschlossen werden. Diese klar charakterisierte Patientengruppe zeigte einen gleichartigen Verlauf der Verschlechterung funktioneller und struktureller Lungenparameter. Zusätzlich war die genaue Krankheitsdauer durch Unfall- und Todeszeitpunkt exakt definiert, was bei nicht traumatischen Schockursachen, wie beispielsweise bei den meisten von ZAPOL et al. (1979 (176)) untersuchten Fällen mit interstitieller Pneumonie, nicht der Fall ist.

Der in dieser Studie gewählte biochemische Ansatz umfaßt dabei eine ganze Reihe unterschiedlicher Komponenten des Gewebes. Dabei wurde zunächst die Menge an Protein, der größten, chemisch definierten Einzelfraktion an der Gewebssubstanz mit 40-45 % des Trockengewichtes (BRADLEY et al., 1974 (12); COLLINS und JONES, 1978 (26)) ermittelt. Die Verminderung der Gesamtproteinmenge um die quantitativ größten Blutproteinanteile, das

Hämoglobin und das Albumin, wurde vorgenommen, um einen Einfluß eingeschwemmten Proteins auf das Ergebnis zu vermindern. Diese Größe des "parenchymalen" Proteins sollte die ortsständigen Veränderungen des Proteinpools besser reflektieren. Daneben wurde als Maß für die Zellzahl die Menge an DNS im Gewebe und als Meßgröße für ihre biosynthetische Leistungsfähigkeit hinsichtlich der Proteinbiosynthese auch die Menge an RNS ermittelt. Als Parameter für die Veränderungen des Bindegewebes waren die Menge an Kollagen sowie die alkaliunlösliche Elastinmenge vorgeesehen.

In ersten Vorversuchen war es nötig, einige methodische Probleme eingehend abzuklären. Da frühere Arbeiten von ZAPOL et al. (1979 (176)) und FULMER et al. (1980 (42)) gezeigt hatten, daß innerhalb des Lungenparenchyms eine große Heterogenität im Verteilungsmuster einzelner Komponenten vorliegt, mußte zunächst eine Reihe verschiedener Gewebeentnahmearten geprüft werden. Wegen guter Übereinstimmung der Ergebnisse und dem Vorteil einer einfachen Handhabung entschieden wir uns für die "kombinierten Proben", d.h. aus einer Reihe kleiner Gewebstückchen zusammengesetzter Proben. Weitere methodische Überprüfungen ergaben bei jeweils zwei differierenden Methoden zur Trockengewichts- und Proteinbestimmung gut übereinstimmende Ergebnisse. Desweiteren mußten für die bislang noch nicht beschriebene Albuminbestimmung im Lungengewebe die Extraktions- und Analyseverfahren überprüft und festgelegt werden. Dabei erwies sich sowohl die Extraktionsweise als auch die mittels Farbreaktion mit Bromkresolgrün durchgeführte Albuminbestimmung als ausreichend präzise sowie schnell und einfach durchführbar.

5.3. Quantitative Veränderungen der Lungengewebzusammensetzung

Als grundlegende Parameter für die Lungengewebsveränderungen sind zunächst die Lungengewichte anzusehen. Schon die Lungenfeuchtgewichte zeigten bei allen Patienten eine drastische Zunahme, wobei hier jedoch keine klare Zeitabhängigkeit der Zunahme nachgewiesen werden konnte. So war bei Patienten mit einer Überlebenszeit von etwa 2 Wochen ein Maximum an Lungenfrischgewicht erreicht, das auch bei länger Überlebenden nicht weiter überschritten wurde. Hauptgrund für diese starke Zunahme der Feuchtgewichte ist vornehmlich das interstitielle Lungenödem, das bei einer bestimmten Menge (klinisch an diesen Patienten mit bis zu 1900 ml gemessen) wohl schon aus rein räumlichen Gründen seine Grenze findet. Vergleichbare Werte für Lungenfeuchtgewichtszunahmen nach schwerem Schock und Trauma können auch bei RIEDE et al. (1979 (131)) gefunden werden. Der Unterschied der in der vorliegenden Studie gemessenen Werte mit denen anderer Studien bei idiopathischer Lungenfibrose (NAHMIAS et al., 1961 (104)) oder anderen fibrotischen Prozessen (PRATT, 1981 (125)), läßt sich ebenfalls aus dem unterschiedlichen Ausprägungsgrad dieses Lungenödems erklären.

Demgegenüber konnte bei den Lungentrockengewichten eine klare lineare, zeitabhängige Zunahme der Werte verzeichnet werden. Diese lineare Trockengewichtszunahme spiegelt wohl bereits die progredienten Gewebsveränderungen als einfachsten Parameter wieder. Das Lungentrockengewicht scheint somit ein deutlich aussagekräftigerer Parameter hinsichtlich der vorliegenden Gewebsveränderungen zu sein, zumal es auch nicht durch schnelles Anwachsen von Blut- und Ödemgehalt wie das Feuchtgewicht beeinflusst

bar ist. Die in der vorliegenden Studie gemessenen Zunahmen der Lungentrockengewichte im posttraumatischen Zustand bestätigen die wenigen bisherigen Literaturangaben hierzu (RIEDE et al., 1979 (132); ZAPOL et al., 1979 (176)), wenn auch bislang die Zeitabhängigkeit der Veränderungen nicht berücksichtigt wurde. Auch die Relativierung des Trockengewichtes um die quantitativ größten Blutanteile ergab eine deutlich lineare, zeitabhängige Trockengewichtsvermehrung. Dies unterstreicht die Wertigkeit der gemessenen Trockensubstanzzunahme als einen ortsständigen, nicht exogen beeinflussten Prozeß.

Parallel zu den beschriebenen Gewichtszunahmen, konnte auch eine, wenn auch geringere Vermehrung des intrapulmonalen Hämoglobingehaltes und damit der intrapulmonalen Blutmenge ermittelt werden. Eine gute Übereinstimmung zeigte dabei der Vergleich der hier gemessenen Normalwerte von ca. 215 ml/Lunge mit den Ergebnissen von STAUB (1974 (152)) mit 195 ml/Lunge und GUMP et al. (1971 (48)) mit ca. 134 ml/Lunge. Auch STAUB (1974 (152)) stellte eine vermehrte Blutfülle in den Lungen von Patienten mit interstitiellem Lungenödem auf knapp das 2fache der Norm fest, während nach GUMP et al. (1971 (48)) gar eine 3.5fach größere Blutmenge in solchen Fällen zu finden ist. Gleichwohl bleibt aber bei dieser Meßgröße als Unsicherheitsfaktor die Frage der prä-mortalen bzw. agonalen Verschiebung des Blutvolumens in die Lunge durch neurovaskuläre Tonuserschlaffung trotz der relativ kurzen Zeit zwischen Tod und Organentnahme bestehen.

In dieser Studie konnte auch die Menge an extravaskulärem Lungenwasser gemessen werden, ein direktes Maß für das Lungenödem, dessen Ausmaß schon durch die Feuchtgewichtszunahme angedeutet war. Dabei ergaben sich signifikant erhöhte Werte in der Patienten-

gruppe mit Lungenödemengen bis zu 1900 ml/Lunge jedoch ohne lineare Veränderungen der Werte mit zunehmender Überlebenszeit. Ein Vergleich mit den intravital gemessenen EVLW-Werten zeigte eine gute Übereinstimmung, wobei jedoch die klinisch gemessenen Werte höher lagen als die gravimetrischen Werte aus dieser Studie. Dies ist möglicherweise auf eine klinische Mitbestimmung perivaskulär-peribronchiolärer Flüssigkeitsmengen zurückzuführen, da in der vorliegenden Studie - aus methodischen Gründen - nur die in der Lungenperipherie feststellbare EVLW-Menge gemessen werden konnte. Ein Vergleich der klinischen EVLW-Messungsmethode mit einer postmortal-gravimetrischen Lungenwassermessung bei Verwendung ganzer Lungen hatte eine gute Übereinstimmung beider Methoden ohne signifikante Nullpunktabweichung ergeben (STURM et al., 1982 (156)).

Es konnte auch eine Vermehrung des extravaskulären Albumins um das maximal 7fache (durchschnittlich 4fache) der Norm im Patientenkollektiv festgestellt werden. Die extravaskuläre Albuminmenge gilt dabei als wichtiger Hinweis für das Vorliegen einer Kapillarpermeabilitätsstörung der Lungenendstrombahn, da nur bei Störung der Kapillarpermeabilität mit einer deutlichen Albuminvermehrung im Interstitium zu rechnen ist (DERKS et al., 1973 (34); STAUB, 1974 (152); BRIGHAM et al., 1979 (17)). Ausgehend von einem extravaskulären Albumingehalt von normal 5.6 g/Lunge einem Wert, der in der vorliegenden Studie mit 4.9 g/Lunge nahezu identisch ermittelt wurde, fanden GUMP et al. (1971 (48)) ebenfalls einen deutlich vermehrten Albumingehalt in den Lungen von Schockpatienten (4.5fach der Norm). Da GUMP et al. nicht die genaue Albuminbestimmungsmethodik angeben, bleibt offen, ob methodisch bedingte Unterschiede zwischen beiden Untersuchungen

vorliegen können. Unsere Daten unterstützen somit die Hypothese, daß in Fällen von schwerem posttraumatischem Lungenversagen eine Kapillarpermeabilitätsstörung mit Durchtritt von Protein ins Interstitium vorliegt. Die nachgewiesene Permeabilitätsstörung kann jedoch nicht allein auf den hypovolämisch-traumatischen Schock zurückgeführt werden, da eine septische Genese in den vorliegenden Fällen mit interkurrierender Sepsis ebenfalls denkbar ist (BRIGHAM et al., 1979 (17)). Der ultrastrukturell beschriebene Proteinreichtum der Ödemflüssigkeit im Lungenödem kann mit den vorliegenden Ergebnissen ebenfalls gut in Einklang gebracht werden (MITTERMAYER et al., 1977 (97); PIETRA et al., 1969 (118)).

Bei den Konzentrationen pro Trockengewicht nehmen Protein- und RNS-Konzentration bei den Schockpatienten leicht zu, während Kollagen- und DNS-Konzentrationen in diesen Fällen sogar niedrigere Werte als die Norm verzeichneten. Statistisch signifikant verschiedene Werte zwischen Patienten- und Kontrollkollektiv liegen nur bei der Protein- und DNS-Konzentration vor. Der Gegensatz zwischen diesen Beobachtungen und den histologischen Befunden einer massiven interstitiellen Fibrose mit Zellproliferation läßt sich durch ein generelles Anwachsen aller Gewebskomponenten erklären. Die Abnahme von Kollagen pro Trockengewicht die auch in der Studie von ZAPOL et al. (1979 (176)) festgestellt werden konnte, ist somit durch ein stärkeres Anwachsen anderer Gewebskomponenten, wie vor allem anderer Proteine, erklärbar. Eine deutliche Diskrepanz ergibt sich hingegen zwischen den vorliegenden Daten und den Ergebnissen von JOACHIM et al. (1978 (62)) bezüglich der DNS-Konzentration. Während JOACHIM et al. eine Zunahme der DNS-Konzentration bereits innerhalb einer

Überlebenszeit von 1 Woche angeben, sind in der vorliegenden Studie deutlich niedrigere DNS-Konzentrationen bei allen Patienten ohne Abhängigkeit von der Überlebenszeit zu finden. Als mögliche Ursache für diese Unterschiede ist das Vorliegen von 2 verschiedenen Untersuchungskollektiven mit unterschiedlicher Mortalitätsrate, wie auch Unterschieden in der Schockursache anzuführen.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß Konzentrationswerte die Gewebsveränderungen nur unzureichend widerspiegeln. Deshalb wurde, in Übereinstimmung mit den Forderungen von ZAPOL et al. (1979 (176)) und PRATT (1981 (125)), die Gesamtgehalte, also die Menge einer Substanz im gesamten Organ, errechnet. Dies scheint besonders für die Kollagen- und DNS-Veränderungen von besonderem Wert zu sein, da beide Komponenten sogar niedrigere Konzentrationswerte als die Norm gezeigt hatten. Der problematische Aspekt an einem solchen Vorgehen besteht jedoch darin, daß von einer begrenzten Probenzahl auf das ganze Organ "hochgerechnet" wird. Zudem kann die Ermittlung der Gesamtgehalte nur durch Bestimmung des Lungengesamtgewichtes erfolgen, ist also der postmortalen Analyse vorbehalten.

Bei den Gesamtgehalten aller Parameter zeigten sich in der Spätphase (Überlebenszeit von mehr als 2 Wochen) deutliche Zuwachsraten bei allen Komponenten. Der Protein- und RNS-Gesamtgehalt läßt einen linear zur Überlebenszeit verlaufenden Anstieg bereits ab einer Woche Überlebensdauer erkennen. Dies ist möglicherweise als Zeichen für eine stark aktivierte Proteinbiosynthese bei allen Schockpatienten zu werten, zumal auch der korrigierte parenchymale Proteingehalt parallel zur RNS-Menge zunimmt. Der

Quotient aus RNS/DNS zeigte im vorliegenden Fall zudem deutlich erhöhte Werte. So ließ sich bei allen Patienten ein nahezu doppelt so hoher Quotient (1.95 : 1) als bei den Kontrollfällen (1.05 : 1) nachweisen. Vergleichbar hierzu fanden TOLSTOSHEV et al. (1981 (159)) bei Zellen mit hoher Zellteilungsaktivität und entsprechender Proteinsynthese ebenfalls nahezu verdoppelte Werte für diesen Quotienten.

Demgegenüber fanden sich weder beim DNS-, noch beim Kollagen- oder Elastingehalt signifikante Unterschiede zwischen Kontrollen und Patienten mit einer Überlebenszeit bis zu 2 Wochen. Bei länger Überlebenden konnte jedoch auch hier eine hochsignifikante Zunahme der Gesamtgehalte gefunden werden. Diese Befunde zeigen, daß innerhalb der ersten beiden Überlebenswochen keine quantitative Vermehrung zellulären oder bindegewebigen Materials vorliegt. Möglicherweise ist dies auf die initiale Nekrose endothelialer und epithelialer Zellen (RATLIFF et al. 1970 (126); RIEDE et al., 1979 (131); PRATT et al., 1979 (124)) mit Zerstörung zellulärer DNS und die gleichzeitige Sequestrierung weißer Blutzellen in der Lunge (PINGLETON et al., 1972 (121); SCHLAG et al., 1976 (144)) zurückzuführen, sodaß keinerlei "Netto"-Veränderung des Gesamtzellbestandes festzustellen ist. Histologische Beobachtungen zeigten, daß nach einer Regenerationszeit von 1-2 Wochen die epitheliale und endotheliale Zellage sich erneuert hat (MITTERMAYER et al., 1979 (99)), während sich der Bestand an weißen Blutzellen in der Lunge über 1-2 Wochen nur wenig verändert (RIEDE et al., 1979 (131)). Somit kommt der Beginn einer Zellproliferation erst nach dieser "stationären" Phase von 2 Wochen in Betracht. Anschließend an die stationäre Initialphase ist aufgrund der zellproliferativen Vorgänge - wie

im vorliegenden Fall - auch eine Zunahme des DNS-Gehaltes zu erwarten.

Bei den Bindegewebsproteinen Kollagen und Elastin könnte man zunächst die "stationäre" Phase als Zeitraum ohne Auf- und Abbau bindegewebiger Elemente ansehen. Da es jedoch feststeht, daß in der Initialphase eine große Anzahl proteolytischer Elemente frei werden (JOCHUM et al., 1983 (63)) kann man zunächst von einem verstärkten Bindegewebsabbau ausgehen. Eine Bindegewebsneubildung könnte dabei durch diese vermehrte Degradation ausgeglichen werden, sodaß rein quantitativ der Eindruck einer unveränderten Bindegewebsmenge - wie im vorliegenden Fall - entsteht. Legt man die beobachtete allgemeine Proteinsynthesesteigerung zugrunde, so wäre bei einer anhaltenden Bindegewebsneuproduktion und einer nachlassenden Proteolyse durch Leukozytenverminderung (RIEDE et al., 1979 (131)) mit einer Bindegewebsvermehrung zu rechnen. Dies konnte in dieser Studie festgestellt werden.

5.4. Beginn der akuten posttraumatischen Lungenfibrose

Eine quantitativ meßbare Lungenfibrose kann nach den vorliegenden Ergebnissen erst bei Überlebenszeiten von mehr als 2 Wochen erwartet werden. Der tödliche Verlauf der Erkrankung bei eher verstorbenen Patienten kann folglich nicht auf eine mengenmäßige Bindegewebsvermehrung zurückgeführt werden. Eine veränderte Gewebsverteilung des Bindegewebes kann jedoch bei diesen Patienten ohne quantitative Bindegewebszunahme einen Einfluß auf den Krankheitsverlauf nehmen. Bei Patienten, die ihr Schockereignis länger als 2 Wochen überleben, ist der Einfluß der Bindegewebsvermehrung auf den letalen Krankheitsverlauf durchaus gegeben.

Der Zeitpunkt des Fibrosebeginnes ist bislang nach morphologischen Untersuchungen strittig. So beschreiben ORELL (1971 (108)), JOACHIM et al. (1978 (62)) und MITTERMAYER et al. (1977 (97)) einen Fibrosebeginn bereits bei Überlebenszeiten von 1 Woche. MITTERMAYER et al. (1977 (97)) weist gar auf eine proliferative, interstitielle Fibroblastenvermehrung innerhalb weniger Tage nach Schock hin. Diese Befunde stimmen hinsichtlich der zeitlichen Verteilung nicht mit den vorliegenden biochemischen Beobachtungen überein, die den Fibrosebeginn ja auf einen Zeitraum jenseits der 2. Überlebenswoche legen. Für die genannten Unterschiede sind einige Erklärungsmöglichkeiten gegeben: zunächst kann das Fortschreiten der krankheitsbedingten Veränderungen und damit der Fibrosebeginn bei verschiedenen Untersuchungskollektiven unterschiedlich sein, desweiteren könnte der Krankheitsbeginn bei nicht traumatischer Genese nicht genau feststellbar sein und damit kürzere Überlebenszeiten vortäuschen, und zum dritten ist es möglich, daß die biochemische Analyse frühe, geringe Unterschiede aufgrund fehlender Gewebsmenge "übersieht", während der histologisch-ultrastrukturelle Ansatz bereits geringe Veränderungen wahrnimmt. In einer kürzlich erschienen Arbeit beschreiben jedoch auch PIETRA et al. (1981 (119)) einen histologisch festgelegten Beginn fibrotischer Lungengewebsveränderungen bei Patienten mit einer Überlebenszeit von mehr als 3 Wochen. Dies würde mit der biochemischen Analyse gut übereinstimmen.

5.5. Molekulare Zusammensetzung und Aufbau des Kollagens

Nachdem der biochemisch festgelegte Fibrosebeginn erst nach Ablauf einer Überlebenszeit von mehr als 2 Wochen festgestellt werden konnte, sollte die Zusammensetzung und Struktur des

Kollagens als Hauptbestandteil des Lungenbindegewebes näher charakterisiert werden.

Die biochemische Analyse ergab zunächst eine signifikant höhere Löslichkeit des Kollagens sowohl unter sauren Bedingungen als auch nach enzymatischem Abbau. Beide Meßwerte, indirekte Parameter für den Quervernetzungsgrad des Kollagens (TANZER, 1976 (157)), waren nahezu verdoppelt. Zwar ließ sich in den Patiententungen auch ein leichterer Abbau des gesamten Gewebes durch Pepsin feststellen, diese "Gewebslöslichkeit" war jedoch geringer als die Kollagenlöslichkeit. Die Studie brachte zudem einige Hinweise, wie man die gesteigerte Löslichkeit des Kollagens auf biochemischer Grundlage erklären kann. Die kollagenspezifische Aminosäure Hydroxylysin gilt dabei als wesentlicher Faktor für eine stabile Quervernetzungsbildung zwischen benachbarten Kollagenmolekülen (GAY und MILLER, 1978 (44)), da es nach enzymatischer Oxidation dieser Aminosäure zur Ausbildung einer Verbindung mit einer korrespondierenden Aminosäure Hydroxylysin eines benachbarten Kollagenmoleküls kommt, die durch eine spontane Amadori-Umlagerung dauerhaft stabilisiert wird (TANZER, 1976(157); MÜLLER und KÜHN, 1971 (103)). Unhydroxylierte Lysylreste sind an dieser stabilen Quervernetzung nur in weit geringerem Umfang beteiligt (GAY und MILLER, 1978 (44)). Die erhöhte Kollagenlöslichkeit in den pathologischen Lungen kann folglich am ehesten auf eine Unterhydroxylierung des Lysins, die in der vorliegenden Studie gleichermaßen in den Kollagentypen I und III gefunden werden konnte, mit entsprechend reduzierter intermolekularer Quervernetzungsbildung zurückgeführt werden. SEYER et al. (1976 (147) berichteten bei chronisch idiopathischen Lungenfibrosen

ebenfalls von einer erniedrigten Hydroxylierung des Lysins mit erhöhter Löslichkeit des Kollagens nach Pepsinabbau. Als Grund für eine mangelnde Lysylhydroxylierung sind mehrere Faktoren möglich: zunächst kann die Lysylhydroxylase spezifisch gehemmt sein, desweiteren könnte ein Mangel an Enzymkofaktoren, vor allem Sauerstoff, α -Ketoglutarat, Eisen und Ascorbat (Abb. 23), vorliegen und schließlich könnte die Kollagenbiosynthese so aktiviert sein, daß das Enzym Lysylhydroxylase einer ausreichenden Hydroxylierung nicht mehr "nachkommt". Die im vorliegenden Fall als normal gemessene Prolylhydroxylierung, die von einem ähnlichen Enzym, der Prolylhydroxylase, mit weitgehend den gleichen Kofaktoren katalysiert wird, spricht gegen das Vorliegen eines absoluten Kofaktormangels, die K_m -Werte der beiden Enzyme sind jedoch verschieden, sodaß ein relativer Kofaktormangel vorliegen könnte.

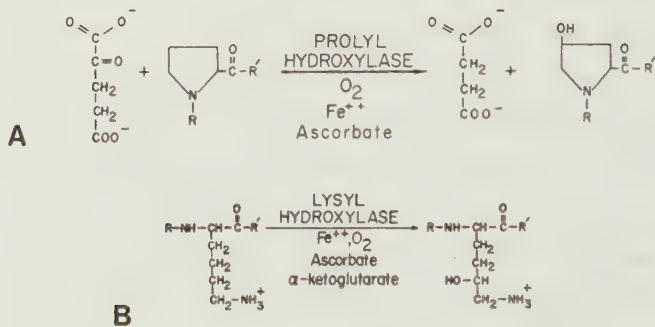


Abb. 23

(a) Prolylhydroxylase; (b) Lysylhydroxylase

Die chemische Analyse des in Lösung gebrachten Kollagens ergab zudem eine Verschiebung des Verhältnisses der interstitiellen

Kollagentypen I und III. Dabei lag der Anteil an Typ III Kollagen in den Patientenlungen deutlich über dem der Kontrollen. Demgegenüber stehen die Berichte von SEYER et al. (1976 (147)), REISER und LAST (1981 (128)) und LAURENT et al. (1981 (74)) bei chronischen und akut experimentellen Lungenfibrosen, die bei Extraktion des Kollagens als Bromcyanpeptide (EPSTEIN, 1971 (38)) und nachfolgender Reinigung, von einer Zunahme des Typ I-Anteils von 70 % auf 80-85 % berichten. Neben möglichen Unterschieden in den verschiedenen Lungenfibroseformen läßt sich diese Diskrepanz vornehmlich auf unterschiedliche Lösungsraten zurückführen. So berichten sowohl SEYER et al. (1976 (147)) als auch REISER und LAST (1981 (128)) von einer Löslichkeitsrate von 90 % allen Hydroxyprolins nach Bromcyanabbau, wobei jedoch unklar bleibt, inwieweit unvollständig gespaltene Peptide als Fehlermöglichkeit bei dieser Zahl zu berücksichtigen bleibt. In den vorliegenden Fällen konnte mittels Pepsinabbau nur 30 bzw. 50 % allen Kollagens in Lösung gebracht werden. Dies bedeutet, daß bei den hier untersuchten Lungen keine Aussage über die Kollagentypenverhältnisse im gesamten Organ gemacht werden kann; der erhöhte Kollagen Typ III-Gehalt in der löslichen Kollagenfraktion der Patientenlungen könnte also sowohl auf eine vermehrte Typ III Kollagenproduktion oder aber auf eine selektiv leichtere Abbaubarkeit dieses Kollagentyps zurückgeführt werden. Die von HORWITZ und CRYSTAL (1976 (60)) beschriebene unterschiedliche Aktivität von Makrophagenkollagenase bei verschiedenen Kollagentypen könnte hierbei ebenfalls eine Rolle spielen und die Kollagen Typ III-Extraktion erleichtern.

Die immunhistologische Analyse des fibrotischen Lungengewebes ergab zudem das Bild einer stellenweise vollständigen Auflösung

der Kollagenanordnung einer regelrechten Lungengewebsstruktur. Eine fokal verstärkte Anfärbbarkeit für Typ I Kollagen deckt sich dabei mit den Beobachtungen von MADRI und FURTHMAYER (1980 (82)) und BATEMAN et al. (1981 (5)). Zusätzlich können die anatomischen Veränderungen von Typ III und IV Kollagen, als Marker für kleine Blutgefäße, - so vor allem deren Abdrängung von der Alveolaroberfläche - als morphologisches Korrelat für physiologische Veränderungen wie Zunahme der Shunt-Fraktion (BLAISDELL et al., 1977 (10)) angesehen werden.

5.6. Hypothesen zur Entstehung der akuten Lungenfibrose

Die oben genannten Ergebnisse konnten das Ausmaß der Lungen-gewebsveränderungen im posttraumatischen Lungenversagen erläutern. Über ihre Entstehung und die Mechanismen der Gewebsveränderungen sind jedoch auch weiterhin nur hypothetische Betrachtungen möglich. Legt man die initiale schock- und/oder traumabedingte Schädigung den Ergebnissen dieser Studie zugrunde, so lassen sich daraus zwei hauptsächliche Hypothesen über Entstehung und Progredienz der nachfolgenden Gewebsveränderungen aufstellen.

Zunächst könnte das Geschehen als die Folge einer immunologischen "Entgleisung" angesehen werden. Im Gefolge der initialen Gewebszerstörung und dem daran anschließenden Ödem im interstitiellen Spalt (RATLIFF et al., 1970 (126)) könnten die in großer Zahl anwesenden, ortsständigen oder immigrierten Immunzellen (SCHLAG et al., 1976 (144); PINGLETON et al., 1972 (121)) die ödematös gequollene Grundsubstanz oder auch die durch enzymatische Audoauung veränderten Zelloberflächen oder Matrixmoleküle als immunologisch "fremd" ansehen. Durch Stimulierung mit freigesetzten

Mediatoren (JOHNSON und ZIFF, 1976 (64)) aus Makrophagen und anderen Immunzellen könnte eine Zellproliferation mit Ablagerung bindegewebiger Matrix bis zur manifesten Lungenfibrose verursacht werden. Diese zunächst als "Abkapselung von Fremdmaterial" sinnvolle Reaktion könnte sich verselbstständigen und einer Regulation entziehen. Im Endstadium wäre somit eine Fibrosierung die Folge. Für diese Hypothese spricht die große Zahl immunologisch aktiver Zellen in der akuten Schocklunge (SCHLAG et al., 1976 (144)). Auch sollen ähnliche Mechanismen aufgrund immunologischer Untersuchungen an der Entstehung idiopathischer, chronischer Lungenfibrosen beteiligt sein (KRAVIS et al., 1976 (69); CARVAJAL et al., 1982 (23)). Das in der vorliegenden Studie festgestellte Anwachsen des Zell- und Bindegewebsmaterials ab einer Überlebenszeit von mehr als 2 Wochen könnte mit dieser immunologisch ausgerichteten Hypothese in Einklang stehen, da eine immunologische Aktivierung mit Freisetzung von Mediatoren erst nach einer Latenz von 2-3 Wochen seine volle Wirkung entfaltet (CARVAJAL et al., 1982 (23)). Demgegenüber steht die Beobachtung einer massiven Zellaktivierung bereits nach mehr als 1 Woche Überlebenszeit, die sich sowohl in einer RNS- als auch Proteinvermehrung widerspiegelt. Dies läßt die immunologische Theorie aufgrund ihrer Latenzgebundenheit eher unwahrscheinlich erscheinen.

Alternativ hierzu besteht die Hypothese einer Art von unspezifischen Entzündungsreaktion als Folge der initialen Gewebeschädigung. Hierbei könnte es nach der Gewebszerstörung zu einer Aktivierung lokaler und immigrierter Zellen kommen, was durch die RNS-Vermehrung unterstrichen wird. Zugleich könnte die fort-dauernde Freisetzung abbauender Enzyme aus untergehenden, seques-

trierten oder immigrierten weißen Blutzellen zu Zellnekrose und Bindegewebsabbau führen, die ihrerseits durch Zellproliferation und Matrixproteinsynthese ausgeglichen werden. Erst nach "Erschöpfung" der Enzymfreisetzung nimmt die Proliferation und Bindegewebsneubildung überhand, es kommt zur quantitativ feststellbaren Fibrose. Mit dieser Hypothese ließen sich die beobachteten Veränderungen der sofortigen Protein- und RNS-Vermehrung und der verzögerten Zell- und Bindegewebsvermehrung in Einklang bringen. Man könnte in diesem Fall auch von einer Art "Wundheilung am falschen Platz" sprechen, da das an sich vernünftige Bestreben des Organismus, das schwer geschädigte Lungenparenchym durch ein Ersatzgewebe zu ersetzen, durch die diffuse Verteilung der Schädigung die gesamte Lunge und somit den Gasaustausch in toto betrifft. Diese Hypothese wird auch durch die Parallelität von Veränderungen bei dem hier analysierten Lungengewebe und dem bekannten Ablauf von Veränderungen einer normalen Wundheilung unterstützt. Bei letzterem kommt es zunächst zur Bildung eines gering quervernetzten, leicht löslichen Kollagens mit einem relativ hohen Typ III Kollagen-Anteil (GAY und MILLER, 1978 (44); WEBER et al., 1978 (167)). In reifen Narben hingegen kann ein stark quervernetztes und nur noch in geringem Grad löslichen Kollagen gefunden werden. Das Verhältnis von Kollagen Typ I/Typ III gibt einen höheren Typ I Kollagenanteil als im Granulationsstadium an (GAY und MILLER, 1978 (44)). Dementsprechend könnte die in der vorliegenden Studie gefundene geringere Quervernetzung und der erhöhte Typ III-Gehalt in der löslichen Kollagenfraktion einer Wundheilung im Granulationsstadium entsprechen.

Die posttraumatische Lungenfibrose ist jedoch , wie an einzelnen Fällen gezeigt werden konnte (MITTERMAYER et al., 1978 (98); HASSENSTEIN et al., 1980 (54); SCHEDEL et al., 1982 (142)) durchaus überlebbar. Ein Grund dafür mag auch der oben gezeigte Befund einer geringeren Quervernetzung und damit einer möglichen, leichteren Abbaubarkeit des Kollagens sein, die vermutlich auf einer mangelhaften, weil zu überstürzten Produktion beruht.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurde eine detaillierte biochemische Analyse von Lungengewebe im Spätstadium der posttraumatischen Schocklunge vorgenommen.

- 1.) Dabei ergab sich ein linear zur Überlebenszeit zunehmendes Lungenfeucht- und -trockengewicht, wobei das Trockengewicht eine engere Korrelation zur Überlebenszeit zeigte und somit als genauere Parameter für die gesamten Gewebsveränderungen anzusehen ist.
- 2.) Die intrapulmonale Blutmenge war ebenso signifikant vermehrt, wie eine Lungenwasservermehrung als direktes, quantitatives Maß für das Lungenödem nachgewiesen werden konnten. Die Lungenödemflüssigkeit hatte dabei einen hohen Albumingehalt, sodaß das Vorliegen einer Kapillarpermeabilitätsschädigung belegt werden konnte.
- 3.) Die Konzentrationen an Gesamtprotein, DNS und RNS zeigten zwar zumeist signifikante Veränderungen in der Patientenlunge, es ließ sich jedoch keine Zeitabhängigkeit der Veränderungen, im Falle der DNS-Konzentration sogar eine deutliche Abnahme der Werte nachweisen. Die Kollagen- und Elastinkonzentrationen hatten ebenfalls eine initial starke Abnahme zu verzeichnen, mit anhaltender Krankheitsdauer näherten sich die Werte denen der Kontrollgruppe wieder an.
- 4.) Die vorliegenden Daten deuten darauf hin, daß in den pathologischen Organen nur die Bestimmung der Gesamtgehalte die realen Veränderungen widerspiegeln.
- 5.) Die Gesamtgehalte an Gesamt- und parenchymalem Protein und

RNS zeigten lineare Zunahmen der Werte schon ab der 1. Woche Überlebenszeit, während die DNS-, Kollagen- und Elastingehalte erst nach einer ca. 2 wöchigen stationären Phase Zunahmen zeigten. Im Spätstadium war also eine Vermehrung sämtlicher gemessener Parameter zu verzeichnen.

- 6.) Der Beginn einer biochemisch nachweisbaren posttraumatischen Lungenfibrose ließ sich folglich erst ab einer Überlebenszeit von mehr als 2 Wochen demonstrieren.
- 7.) Anhand von Gewebe mit biochemisch nachgewiesener Lungenfibrose konnten molekulare Veränderungen des Kollagens festgestellt werden. Im Spätstadium der Schocklunge war der Quervernetzungsgrad des Kollagens reduziert, der relative Kollagen Typ III Anteil war vermehrt. Desweiteren wird eine verminderte Lysylhydroxylierung gleichermaßen in den Kollagen Typen I und III beschrieben, ein möglicher Grund für die verminderte Quervernetzung des Lungenkollagens.
- 8.) Als zusammenfassende Hypothese wird die Frage aufgeworfen, ob es sich bei den Veränderungen in der posttraumatischen Schocklunge nicht um eine Art unspezifischer Entzündungsreaktion mit nachfolgender "überschießender Wundheilung" des Lungenparenchyms mit Fibrosierung des Interstitiums handelt.

7. M a t e r i a l u n d M e t h o d e n

7.1. Patientengut

Als Untersuchungsgut für diese prospektiv angelegte Studie standen die Lungen von 11 polytraumatisierten Patienten, die einen schweren traumatisch-hämorrhagischen Schock erlitten hatten und an protrahiertem Lungenversagen ("Schocklunge") verstorben waren, zu Verfügung. Alle Patienten wurden in der Zeit von April 1980 bis März 1981 in der chirurgischen Intensivabteilung der Unfallchirurgischen Klinik der Medizinischen Hochschule, Hannover, behandelt. Für eine Aufnahme in das Patientenkollektiv waren folgende, strenge Auswahlkriterien festgelegt, um exogene Störeinflüsse möglichst zu vermindern :

- Es mußten multiple Verletzungen mehrerer Körperregionen bzw. Organe vorliegen, von denen eine als lebensbedrohlich anzusehen sein mußte.
- Der geschätzte Blutverlust der ersten Stunde (geschätzt nach STURM et al., 1979 (155)) hatte 1500 ml zu überschreiten.
- Es durfte kein schweres Schädelhirntrauma,
- keine direkte Lungenschädigung im Sinne einer ausgedehnten Kontusion oder Perforation bestehen,
- sowie keine anamnestisch bekannten, ernsthaften Lungenvorerkrankungen nachweisbar sein.

Desweiteren wurde eine Altersbegrenzung auf 18 - 45 Jahre eingeführt, um mögliche altersabhängige Gewebsveränderungen, wie vom Bindegewebe bekannt (BRISCOE et al., 1959 (19); JOHNSON und ANDREWS, 1970 (65)), zu vermeiden. In die Patientengruppe wurden weiterhin nur Patienten mit einer Überlebenszeit von mehr als 7 Tagen aufgenommen, um ein möglichst homogenes Patientengut mit bereits ausgebildeten Gewebsveränderungen zu erfassen, wie es von früheren

histologischen Untersuchungen zu erwarten war. Die Patienten der Untersuchungsgruppe hatten ein Durchschnittsalter von 32.9 Jahren, 3 Frauen standen 8 Männern gegenüber. Die klinischen Daten der Patienten sind in Tab. 18 wiedergegeben.

Nach Wiederbelebung und erster Hilfe am Unfallort zur Schockbekämpfung sowie der Durchführung von Notfalloperationen, wurden alle Patienten gleichermaßen mit künstlicher Beatmung mit "high tidal volume" und positiv endexpiratorischem Beatmungsdruck, einer adäquaten Volumentherapie, parenteraler Ernährung, cardio-vaskulärer, positiv inotroper Medikation und antibiotischer Abdeckung je nach Resistenztestung behandelt. In einigen Fällen wurden präventiv Kortikosteroide (Dexamethason 3 x 8 mg für 3 Tg.) kurzzeitig angewendet, um ein Hirn^{em}ödem bei Kopfverletzung vorzubeugen.

Bei allen Patienten setzte im Verlauf nach ihrem schweren Schock und Trauma eine respiratorische Insuffizienz ein, die aufgrund der Messung des extravaskulären Lungenwassers (LEWIS et al., 1979 (77)) primär durch ein Lungenödem bedingt erschien. Nach und nach verschlechterte sich die Lungenfunktion in zunehmendem Maße. Klinisch ließ sich ein Abfall des Pa_{O_2} trotz Steigerung des Fi_{O_2} feststellen, sodaß schließlich bei Ventilation reinen Sauerstoffes bei allen Patienten der Pa_{O_2} unter 60 mm Hg absank. Gleichzeitig ließ sich eine Zunahme des maximalen inspiratorischen Beatmungsdruckes auf das durchschnittlich 2.5fache, eine Abnahme der Compliance auf unter 50 % der Ausgangswerte, sowie eine Zunahme von Totraum und Shunt-Volumen auf etwa das 5fache des Ausgangswertes feststellen. In 10 Fällen erschwerte eine gram-negative Sepsis, in 7 Fällen zusätzlich ein akutes Nierenversagen den Krankheitsverlauf, sodaß letztlich von einem septischen Multi-Organversagen gesprochen werden

Patientengut - klinische Daten

Patienten Nr.	Initialen	Alter/Geschlecht (J)	Körper- oberfläche (m ²)	Überlebens- zeit (Tg.)	Sepsis	akutes Nierenversagen
1	I.W.	34/ f	1.55	8	Ø	+
2	R.K.	42/ m	1.83	8	+	Ø
3	R.S.	35/ m	1.83	13	+	+
4	M.M.	18/ f	1.84	14	+	Ø
5	K.M.	26/ m	1.90	15	+	+
6	W.S.	36/ m	1.94	16	+	Ø
7	J.L.	26/ m	1.79	18	+	Ø
8	E.P.	45/ f	1.77	19	+	+
9	M.U.	26/ m	1.76	23	+	+
10	E.C.	44/ m	1.88	29	+	+
11	R.L.	30/ m	1.90	42	+	+

1
8
8
1

Tab. 10

Klinische und histopathologische Daten

Pat. Nr.	$\frac{PaO_2}{F_{iO_2}}$	C M P (cm H ₂ O / ml)	E V L W (ml / kg KG)	interstitielles Ödem	Fibroblasten proliferation	intersti- tielle Fibrose
Kontrolle	428 ± 34	0.073 ± 0.012	6.2 ± 0.9	Ø	Ø	Ø
1	186	0.016	17.6	++	Ø	Ø
2	145	0.027	14.1	++	(+)	(+)
3	61	0.032	16.2	++	+	+
4	58	0.019	15.8	+	++	++
5	48	0.024	13.0	+	(+)	+
6	65	0.033	21.1	+	+	++
7	57	0.026	14.3	+	++	+
8	53	0.023	16.4	+	+	+
9	59	0.026	15.7	+	++	++
10	51	0.024	17.3	+	+++	+++
11	55	0.019	19.2	+	+++	+++

1
8
9
1

Tabelle 20

Kontrollpopulation

Nr.	Bezeichnung	Alter (J.)	Geschlecht	Körperoberfl. (m ²)	Todes- ursache
1	D.G.	21	m	1.91	SHT
2	C.A.	22	m	1.74	SHT
3	W.G.	19	m	1.83	hoher Querschnitt
4	I.A.	34	f	1.64	Hirnblutung
5	H.R.	25	m	1.83	SHT
6	G.D.	26	m	1.89	SHT

SHT = Schädel-Hirn-Trauma

müsste. Die pathologisch-anatomische Untersuchung der Lungen post mortem, dargestellt in Tab. 19, ergab alle Kriterien einer Schocklunge im Spätstadium. Dabei wurden vor allem die Zeichen von Fibroblastenproliferation und interstitieller Fibrose festgestellt.

Die Kontrollgruppe bestand aus 6 Personen, die nach schwerer Verletzung zur Organspende vorgesehen waren. Sie alle waren akut an Verletzungen vor allem des Gehirns verstorben. Ihr Alters- und Geschlechtsverhältnis entsprach dem der Patientengruppe. Die pathologisch-anatomische Analyse ergab keine besonderen kardiopulmonalen Veränderungen (Tab. 20).

7.2. Materialien

Die zur Analyse verwendeten Chemikalien, insbesondere die Enzympräparationen (Pepsin aus Rindermagen und Elastase aus Schweine-

pankreas) wurden von der Fa. MERCK, Darmstadt, bezogen. Desweiteren wurden verwendet:

Rinderserumalbumin (Fa. SERVA, Heidelberg),
anti-Kaninchen-Globulin, markiert mit FITC und NOR-PARTIGEN^R
Immundiffusionsplatten Albumin (BEHRINGWERKE, Marburg),
Desoxyribonukleinsäure aus Lachstestes (MILLIPORE Comp. Freehold, NY, USA).

Antikörper gegen bovines Kollagen Typ I und III waren eine großzügige Gabe von Dr. M. WIESTNER, Max-Planck Inst. f. Biochemie, Antikörper gegen Typ IV Kollagen wurden von Dr. T. VOSS, Max-Planck Inst. f. Biochemie, zu Verfügung gestellt und t-RNA aus Weizenkeimlingen war eine großzügige Gabe von Dr. P.K. MÜLLER, Max-Planck Inst. f. Biochemie.

Im Verlauf der Präparation und Analyse wurden folgende Geräte eingesetzt:

Polytron Homogenisator; Beckman Zentrifuge, Modell J-6B; Sorvall Ultrazentrifuge; Haereus Christ Minifuge 2; Zeiss Spektralphotometer PM; Zeiss Chromatographie-Spektralphotometer; Aminosäureanalysator Durrum D 500; Lyophilisator; Fluoreszenzmikroskop Fa. Leitz;

7.3. Methoden

7.3.1. Materialentnahme

Die Lungen wurden innerhalb von 2 Stunden nach Feststellung des Todes in einer vorgezogenen, partiellen Obduktion entnommen, um mögliche postmortale Veränderungen zu vermeiden. Gleich nach der Organentnahme wurden diese zur Frischgewichtsbestimmung gewogen und sodann in Teile zur histologischen Begutachtung und für die biochemische Analyse aufgeteilt. Die Teile für die biochemische

Untersuchung wurden anschließend sofort in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bei mindestens -20°C aufbewahrt.

Bei der biochemischen Analyse wurden zunächst Pleura, sichtbare Bronchien und Blutgefäße entfernt, Lungenregionen mit makroskopisch sichtbarer Infarzierung oder Abszeßbildung waren nicht vorhanden.

7.3.2. Bestimmung des Lungentrockengewichtes

Nach Bestimmung der Organgewichte nach der Entnahme (=Feuchtgewicht) wurde als weitere Basisgröße das Lungentrockengewicht ermittelt. Dazu wurden zunächst an 7 Organen 2 verschiedene Bestimmungsmethoden zum Vergleich angewendet. Bei der Verdampfungsmethode nach PEARCE et al. (1965 (111)) werden abgewogene Gewebestücke homogenisiert und das Homogenat bei 85°C eingetrocknet. Alternativ dazu wurde die Lyophilisation verwendet, bei der abgewogene Gewebestücke tiefgefroren im Vakuum gefriergetrocknet werden.

7.3.3. Entnahme und Vorbereitung der Proben

Um der stark heterogenen Zusammensetzung des Lungengewebes Rechnung zu tragen (ZAPOL et al., 1979 (176); FULMER et al., 1980 (42)), die eine große Streuung der Einzelresultate hervorruft, und um zugleich die Bestimmung einer Reihe verschiedener Parameter zu ermöglichen, wurden in ersten Versuchen 3 differierende Probeentnahmearten auf die Vergleichbarkeit ihrer Ergebnisse an 4 Organen untersucht:

- a) 15-20 Einzelproben wurden von zufällig verteilten Stellen der gesamten Lunge entnommen und einzeln untersucht (Feuchtgewicht etwa 50 mg);

- b) 15-20 Einzelproben wurden von zufällig über die gesamte Lunge verteilten Stellen entnommen, vereint und als gemeinsame Probe analysiert ("kombinierte Probe") (Feuchtgewicht zwischen 300-800 mg);
- c) 15 Proben wurden von einem Gewebehomogenat aus je 5 großen Gewebsblöcken mit einem Feuchtgewicht von 60-120 g entnommen und analysiert;

Da die kombinierten Proben (b) ein hohes Maß an Übereinstimmung sowohl mit Einzelproben (a) als auch mit Proben aus einem Homogenat (c) zeigten (s. ERGEBNISSE), und hierbei gleichwertiges Material für eine ganze Reihe verschiedener Bestimmungen verfügbar ist, wurden im weiteren nur die kombinierten Proben (b) verwendet.

In Anlehnung an die Methode von BRADLEY et al. (1974 (12)) wurde die entnommene Gewebeprobe in etwa 7 ml 20 mmol/l Trispuffer, pH 7.4, unter Zugabe eines Tropfens Octanol als Detergens, suspendiert und für 30 Sek. bei 10000 U/min. homogenisiert (Polytron Homogenisator). Das Homogenat wurde sodann durch Zugabe von weiterem Trispuffer auf exakt 8.0 ml aufgefüllt. Der Arbeitsgang der folgenden Analyse ist in einem Flußdiagramm in Abb. 24 abgebildet.

7.3.4. Bestimmung von Kollagen- und Gesamtproteinkonzentration mit Hilfe der Aminosäureanalyse

Zur Aminosäureanalyse wurden lyophilisierte Fraktionen entsprechend 0.3 ml Homogenat sowie zur Erhöhung der Probenzahl abgewogene Gewebsstücke direkt verwendet. Die Proben wurden in 6 N HCl mit 0.5 % Mercaptoethanol hydrolysiert (20 h, 110°C, N₂-Athmosphäre). Mit Hilfe eines DURRUM D 500 Aminosäureanalysa-

Flußdiagramm der experimentellen

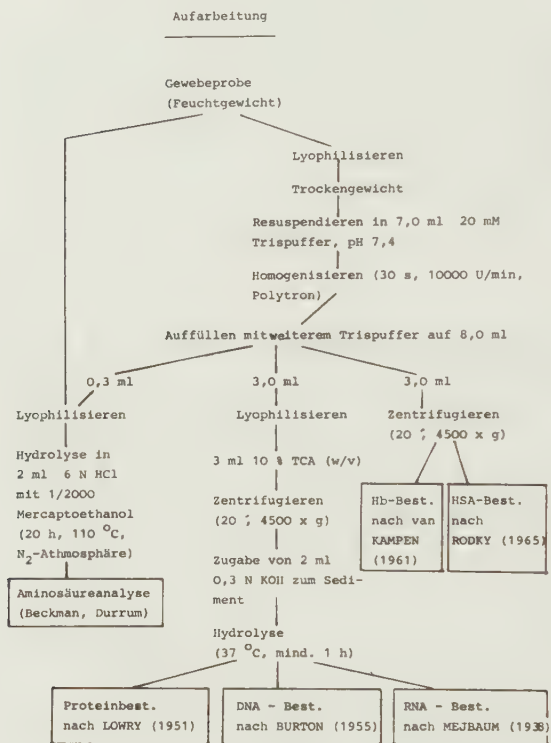


Abb. 24

tors (Sensitivität ca. 2-5 nmol pro Aminosäure) konnte die Aminosäurezusammensetzung der Probe bestimmt werden.

Die Anzahl der Hydroxyprolinreste konnte sodann zur Berechnung der Kollagenmenge der Probe unter Verwendung eines Faktors von 7.5 (NEUMAN und LOGAN, 1950 (106); FULMER et al., 1980 (42)) verwendet werden. Zur Errechnung der Menge an Gesamtprotein wurden die Daten für die einzelnen Aminosäuren addiert und mit einem mittleren Molekulargewicht von 100 multipliziert. Hydrolytische Verluste von Threonin und Serin konnten durch Berücksichtigung der Faktoren 1.08 bzw 1.21 korrigiert werden (RISTELI et al., 1980 (136)).

7.3.5. Bestimmung von Gesamtprotein, Desoxvribonukleinsäure (DNS) und Ribonukleinsäure (RNS) mit kolorimetrischen Verfahren

Hierzu wurde eine 3.0 ml Homogenatfraktion lyophilisiert, in 3.0 ml 10 % Trichloressigsäure (w/v) gefällt und das Präzipitat bei 4500 x g 20 Min. abzentrifugiert. Der Überstand dieser Fällung wurde bei einigen Proben elektrophoretisch auf verbliebenes Protein hin untersucht, wobei sich im Überstand jedoch keinerlei Protein feststellen ließ. Der Überstand wurde daraufhin im folgenden nach dem Dekantieren verworfen. Das Sediment wurde sodann in 2.0 ml 0.3 N KOH bei 37°C bis zur vollständigen Auflösung hydrolysiert. Nach Neutralisation konnten geeignete aliquote Anteile für die nachfolgenden Bestimmungen entnommen werden.

Die Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration erfolgte mit der Folin-Phenol-Methode nach LOWRY et al. (1951 (79)) unter Verwendung von Rinderserumalbumin als Standard. Die Menge an DNS in der Probe wurde mit der Diphenylamin-Methode nach BURTON (1956 (21)) ermittelt. Hier wurde eine Lösung mit Lachs-Testes-DNS als Standard verwendet. Die Bestimmung der RNS-Konzentration erfolgte mit der Orcinolmethode nach OGUR und ROSEN (1959 (107)). Als Standard diente hier eine Weizen-t-RNA-Lösung.

7.3.6. Bestimmung der Serumalbuminkonzentration

Da es bislang für die Bestimmung der Albuminkonzentration im Lungengewebe keine methodischen Vorschriften gibt, wurden zunächst in Vorversuchen Methoden und Anwendungsbedingungen überprüft. Bei der ausgewählten kolorimetrischen Bromkresolgrün-Methode, die bei ausreichend hoher Spezifität schnell und einfach

bei großen Probenzahlen durchgeführt werden kann (WEBSTER, 1977 (168)) wurden zunächst die Extraktionsbedingungen getestet. Um den Einfluß der Homogenisierungszeit auf die freigesetzte Albuminmenge zu erfassen, wurde die Homogenisierung nach 10, 20, 30, 45 und 60 Sek. bei 10000 U/min. unterbrochen und je ein Aliquot auf die Albuminkonzentration hin untersucht. Nachfolgend wurde das Homogenat einem Zentrifugationsschritt unterzogen. Die Zentrifugation wurde bei 4500 x g nach 5, 10, 20 und 30 Min. unterbrochen und wiederum je ein Aliquot analysiert.

Die Farbreaktion wurde mit der von DOUMAS et al. (1971 (35)) beschriebenen und von SCHIRARDIN und NEY (1972 (143)) verbesserten Methode durchgeführt. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Zeit zwischen Reaktionsbeginn und Messung unter 10 Sek. gehalten wurde, um Interferenzen mit α -Globulinen, die eine langsamere Reaktionskinetik zeigen, zu vermeiden (GUSTAFSSON, 1976 (49); WEBSTER, 1977 (168)). Als Standard diente eine Lösung aus humanem Serumalbumin.

Um die Effektivität der Extraktion zu messen, wurde die Menge an Albumin im Sediment nach Rehomogenisieren ermittelt. Schließlich wurde der Einfluß einiger Gewebskomponenten auf die Reaktion überprüft. Dazu wurde in ansteigender Konzentration Kollagen (10-40 mg/ml), DNS (1-5 mg/ml), RNS (1-7 mg/ml) und eine Aminosäurelösung (0.2-0.6 mg/ml) dem Reaktionsgemisch hinzugefügt.

In einem weiteren Experiment wurden die Ergebnisse der Bromkresolgrün-Methode mit denen der radialen Immundiffusion nach MANCINI et al. (1965 (84)), einer der spezifischsten Albuminbestimmungsmethoden, verglichen. Die radiale Immundiffusion wurde mit kommerziellen PARTIGEN^R-Immundiffusionsplatten "Albumin"

durchgeführt. Aus der Größe der Präzipitatringe konnte unter Vergleich mit den Standardwerten die jeweilige Albuminmenge errechnet werden.

7.3.7. Bestimmung der Hämoglobinkonzentration

Zur Bestimmung der Hämoglobinkonzentration der Proben wurde die Cyanhämoglobinmethode (van KAMPEN und ZIJLSTRA, 1961 (162)) in ihrer Modifikation für Lungengewebshomogenate nach PEARCE et al. (1965 (111)) verwendet. Ein Aliquot des Gewebekomogenates wird dabei bei 30000 x g für 1 h zentrifugiert und im klaren Überstand die Hämoglobinkonzentration gemessen. Der Hämoglobingehalt der Probe errechnet sich aus der Extinktion, dem Molekulargewicht des Hämoglobins und der Molarextinktion des Hämoglobins.

7.3.8. Bestimmung des alkaliextrahierbaren Elastinproteins

Die hierbei verwendete Methode nach McCULLOUGH et al. (1978 (86)) stellt eine Kombination der Alkaliextraktionsmethode nach LANSING et al. (1952 (73)) und dem enzymatischen Abbau nach NAUM und MORGAN (1973 (105)) dar. Lyophilisierte Gewebeproben werden dabei in 0.1 N Natronlauge bei 95°C abgebaut und der unlösliche Rückstand nachfolgend mit Elastase (30 Min., 37°C, 0.1 mg/ml in 0.02 M NaHCO₃, pH 8.8) angedaut. Nach Abzentrifugieren des weiterhin unlöslichen Rückstandes wird im Überstand die Proteinmenge mit der Methode nach LOWRY et al. (1951. (79)) ermittelt.

7.3.9. Kollagenabbau und Bestimmung der Löslichkeit

Zur Ermittlung der Gewebslöslichkeit sowie der Kollagenlöslichkeit und zur Untersuchung von Struktur und Polymorphismus des Kollagens

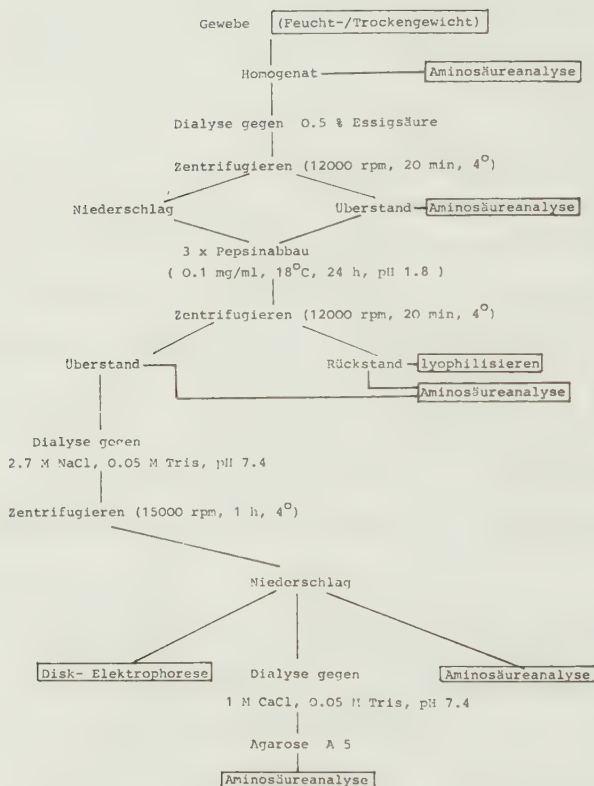


Abb. 25

Flußdiagramm der
Kollagenanalyse

wurden Gewebeproben mit einem Feuchtgewicht von etwa 10 g ausgewählt. Wie in dem Diagramm in Abb. 25 dargestellt, wurde die Probe in einen Teil zur Trockengewichtsbestimmung mittels Lyophilisation und einen Teil zur Homogenisierung (2 x 60 Sek., 10000 U/min., Polytron) in 0.5 % Essigsäure geteilt. Im Homogenat konnte durch Hydroxyprolinmessung (Aminosäureanalyse) die Kollagenkonzentration bestimmt werden. Nach Dialyse für 24 h gegen 0.5 % Essigsäure und Zentrifugation (12000 U/min., 4°C, Sorvall Ultrazentrifuge) wurde im Überstand wiederum die Kollagen-

konzentration ermittelt. Nach Vereinigung von Überstand und Rückstand wurde ein dreimaliger, limitierter Pepsinabbau (0.1 mg/ml, 24 h, 18°C, pH 1.8) durchgeführt (MILLER, 1971 (91)). Die Überstände der Pepsinabbauschritte jeweils nach Zentrifugation (12000 U/min., 20 min., 4°C, Sorvall) wurden vereint und ihre Kollagenkonzentration ermittelt. Der Rückstand wurde lyophilisiert, gewogen und sein Kollagengehalt ebenfalls bestimmt.

Aus der eingewogenen Gewebsmenge und dem abgewogenen Rückstand ließ sich der pepsinresistente Gewebeanteil errechnen, während durch die Kollagenbestimmungen die Löslichkeit des Kollagens in 0.5 % Essigsäure und nach dreimaligem Pepsinabbau bestimmt werden konnte.

7.3.10. Bestimmung des Verhältnisses von Kollagen Typ I/III

Zur Bestimmung des Verhältnisses der interstitiellen Kollagentypen I und III wurde das pepsinlösliche Kollagen in 2.7 M NaCl, 0.05 M Tris, pH 7.4, gefällt (2 x 24 h, 4°C) und die so ausgefällten interstitiellen Kollagenmoleküle bei 15000 U/min. für 1 h abzentrifugiert. Die durch kurzzeitiges Erwärmen (45°C, 20 min.) denaturierten Kollagenketten wurden sodann mittels Gradienten-SDS-Gelelektrophorese (5-10 %) aufgetrennt (LAEMMLI, 1970 (71)). Die elektrophoretische Trennung erfolgte sowohl unter nicht reduzierten als auch unter reduzierten Bedingungen (Zugabe von Mercaptoethanol). Nach Färbung der Proteinbanden mit Coomassie-Blau-Färbelösung erfolgte eine densitometrische Auswertung der Gele mit Hilfe eines Chromatogramm-Spektralphotometers (Fa. Zeiss). Das Verhältnis von α - zu γ -Ketten wurde errechnet. Die durch Reduktion der Disulfidbrücken zusätzlich freigesetzten

α_1 (III)-Ketten konnten als Differenzbetrag zwischen nicht reduzierter und reduzierter γ -Komponente ermittelt werden und ergaben somit die Menge an Typ III Kollagen im Verhältnis zum Typ I Kollagen.

7.3.11. Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung des Kollagens in der Lunge

Zunächst wurde die Aminosäurezusammensetzung des gesamten, pepsinlöslichen Kollagens anhand von 2.7 M NaCl gefälltem Kollagen mittels Aminosäureanalyse (s. 7.3.4.) durchgeführt. Nach Korrektur der Hydrolyseverlust von Threonin und Serin (RISTELI et al., 1980 (136)) wurde die Aminosäurezusammensetzung in % der Gesamtaminosäuremenge angegeben.

Nach Dialyse gegen 1 M CaCl₂, 0.05 M-Tris, pH 7.4, und säulenchromatographischer Trennung an einer Agarose A 5 - Säule nach den Bedingungen von PIEZ et al. (1968 (120)) konnte in den aufgetrennten α -, β - und γ -Komponenten die Aminosäurezusammensetzung bestimmt werden. Die α -Komponente repräsentiert dabei Typ I Kollagen, während Typ III Kollagen nach Rechromatographie der γ -Komponente unter reduzierenden Bedingungen gewonnen werden konnte.

7.3.12. Immunhistologische Untersuchung der Kollagentypen I, III und des Basalmembrankollagens Typ IV

Zur immunhistologischen Lokalisation verschiedener Kollagentypen wurden 4-6 μ m dicke Serienschnitte im Gefriermikrotom hergestellt. Die Kollagentypenlokalisierung erfolgte mit der indirekten Immunfluoreszenztechnik (WICK et al., 1982 (175)). Dabei wird der Schnitt mit typenspezifischem Antikörper inkubiert und mit einem FITC-markiertem Zweitantikörper, der gegen den spezifischen Anti-

körper gerichtet ist, nachinkubiert. Der so gefärbte Schnitt kann im Fluoreszenzlicht begutachtet werden (Leitz Fluoreszenzmikroskop). Als Kontrolle werden je ein Schnitt ohne spezifischen Antikörper und ein Schnitt nach Präinkubation mit dem Tierserum der Spezies, in der der Zweitantikörper produziert wurde, mitgeführt. Die optimalen Verdünnungsbedingungen der Antikörper wurden vor Verwendung einer neuen Charge durch Hämagglutinationshemmtest oder durch Färbung in verschiedenen Verdünnungsstufen ermittelt.

7.3.13. Berechnungen und Statistik

Die bei der Analyse ermittelten Ergebnisse wurden zunächst als Konzentration pro Trockengewicht, also als relative Größe, angegeben. Da frühere Untersuchungen (ZAPOL et al., 1979 (176); PRATT, 1981 (125)) besonders in den pathologisch veränderten Lungen drastische Lungengewichtszunahmen gezeigt hatten, schien die Ermittlung der Gesamtgehalte bezogen auf die ganze Lunge erforderlich. Dazu wurde die Konzentration mit dem jeweiligen Lungentrockengewicht multipliziert.

Der parenchymale Proteingehalt wurde als Differenzbetrag zwischen Gesamtproteingehalt und den kombinierten Hämoglobin- und Albumingesamtgehalten berechnet. Das extravaskuläre Lungengewasser der Lungenperipherie konnte aus dem intrapulmonalen Blutvolumen und dem Lungengesamtgewicht abzüglich der Gewebsmenge ermittelt werden. Die extravaskuläre Albuminmenge konnte aus der Gesamtalbuminmenge der Probe und dem intravasalen Albuminteil errechnet werden, wobei letzterer aus Hämoglobin- und Albuminkonzentrationswerten, die unmittelbar postmortal in Pulmonalvenenblut bei der Organentnahme bestimmt werden konnten.

Zur statistischen Analyse wurde der zweiseitige, ungepaarte t-Test verwendet, wobei ein Signifikanzniveau von $p \leq 0.05$ als "signifikant" beurteilt wurde (SACHS, 1972 (139)). Desweiteren wurde der Grad an Korrelation zwischen den einzelnen Parametern und der Überlebenszeit errechnet; diese Zeitspanne schien durch die genaue Festlegung von Unfall- und Todeszeitpunkt als best geeignete Größe.

6. Literaturverzeichnis

1. Ashbaugh, D.G.; Bigelow, D.B.; Petty, T.L.; Levine, B.E.;
Acute respiratory distress in adults
Lancet 12, 319-323 (1967)
2. Askin, F.B.; Kuhn, C.;
The cellular origin of pulmonary surfactant
Lab. Invest. 25, 260-268 (1971)
3. Bachofen, M.; Weibel, E.R.
Basic pattern of tissue repair in human lungs following
unspecific injury
Chest 65, 14S-19S (1974)
4. Bargmann, W.;
Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen, 7.Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart (1977)
5. Bateman, E.D.; Turner-Warwick, M.; Adelman-Grill, B.C.;
Immunohistochemical study of collagen types in human foetal
and fibrotic lung disease
Thorax 36, 645-653 (1981)
6. Beng, C.C.; Lim, K.D.;
An improved automated method for the determination of serum
albumin using bromocresol green
Am. J. Path. 59, 14-21 (1973)
7. Bergofsky, E.H.;
Mechanisms underlying vasomotor regulation of regional
pulmonary blood flow in normal and disease state
Am. J. Med. 57, 378-394 (1974)
8. Bischoff, E.;
Einige Gewichts- und Trockenbestimmungen der Organe des
menschlichen Körpers
Z. ration. Med. 20, 75-118 (1863)

9. Blaisdell, F.W.; Lim, R.C.; Stallone, R.J.;
The mechanism of pulmonary damage following traumatic shock
Surg. Gyn. Obst. 130, 15-22 (1970)
10. Blaisdell, F.W.; Lewis, F.R.;
Respiratory distress syndrome of shock and trauma: post-
traumatic respiratory failure
Major Problems in Clin. Surg. 21, 84-116 (1977)
11. Blalock, A.;
Experimental shock
Arch. Surg. 20, 959-996 (1930)
12. Bradley, K.H.; McConnell, S.D.; Crystal, R.G.;
Lung collagen composition and synthesis
J. Biol. Chem. 249, 2674-2683 (1974)
13. Bradley, K.; McConnell, S.; Crystal, R.G.
Lung collagen heterogeneity
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 2828-2832 (1974)
14. Bradley, K.; McConnell-Breul, S.; Crystal, R.G.;
Collagen in the human lung
J. Clin. Invest. 55, 543-550 (1975)
15. Brauer, L.;
Respiratorische Insuffizienz
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 44, 120-125 (1932)
16. Braunschweig, H.;
Dis ist das buch der Cirurgia
Strassburg (1497)
17. Brigham, K.L.; Bowers, R.E.; Hayner, J.;
Increased sheep lung vascular permeability caused by
Escherichia coli endotoxin
Circ. Res. 45, 292-297 (1979)

18. Briscoe, A.M.; Loring, W.E.;
Hydroxyproline content of human lung and of lung collagen
Fed. Proc. 18, 470 (1959)
19. Briscoe, A.M.; Loring, W.E.; McClement, J.H.;
Changes in human lung collagen and lipids with age
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 71-74 (1959)
20. Burford, T.H.; Burbank, B.;
Traumatic wet lung
J. Thorac. Surg. 14, 415-421 (1945)
21. Burton, K.;
A study on the conditions and mechanisms of the diphenyl-
amine reaction for the colorimetric estimation of des-
oxyribonucleic acid
Biochem. J. 62, 315-323 (1956)
22. Cannon, W.B.; Fraser, J.; Hooper, A.N.;
Some alterations in distribution and character of blood
in shock and hemorrhage
J. Am. Med. Ass. 70, 526-535 (1918)
23. Carvajal, R.E.; Gonzalez, R.; Vargas, F.; Selman, M.;
Cell-mediated immunity against connective tissue in ex-
perimental pulmonary fibrosis
Lung 160, 131-140 (1982)
24. Collins, J.A.
The causes of progressive pulmonary insufficiency in
surgical patients
J. Surg. Res. 9, 685-704 (1969)
25. Collins, J.F.; Johanson, W.G.; McCullough, B.; Jones, M.A.;
Waugh, M.J.;
Effects of compensatory lung growth in radiation-induced
regional pulmonary fibrosis in the baboon
Am. Rev. Resp. Dis. 117, 1079-1089 (1978)

26. Collins, J.F.; Jones, M.A.;
Connective tissue proteins of the baboon lung: concentration, content and synthesis in the normal lung
Conn. Tiss. Res. 5, 211-215 (1978)
27. Crapo, J.D.; Barry, B.E.; Gehr, P.; Bachofen, M.; Weibel, E.R.;
Cell number and cell characteristics of the normal human lung
Am. Rev. Resp. Dis. 125, 332-337 (1982)
28. Cross, C.E.; Hesterberg, T.W.; Reiser, K.M.; Last, J.A.;
Ozone toxicity as a model of lung fibrosis
Chest 80, 52S-54S (1981)
29. Crystal, R.G.; Fulmer, J.D.; Roberts, W.C.; Moss, M.L.;
Line, B.R.; Reynolds, H.Y.;
Idiopathic pulmonary fibrosis
Ann. Intern. Med. 85, 769-788 (1976)
30. Crystal, R.G.; Fulmer, J.D.; Baum, B.J.; Bernardo, J.; Bradley, K.H.; Breul, S.D.; Elson, N.A.; Fells, V.J.; Gadek, J.E.;
Hunnighake, G.W.; Kawanami, O.; Kelman, J.A.; Line, B.R.;
McDonalds, J.A.; McLees, B.D.; Roberts, W.C.; Rosenberg, D.M.;
Tolstoshev, P.; Von Gal, E.; Weinberger, S.E.;
Cells, collagen and idiopathic pulmonary fibrosis
Lung 155, 199-224 (1978)
31. Davis, H.A.
zit. nach Gersmeyer und Yasargil (45)
32. Delemos, R.; Wolfsdorf, J.; Nachman, R.; Block, A.J.; Leiby, G.;
Wilkinson, H.A.; Allen, T.; Haller, J.A.; Morgan, W.; Avery, ME;
Lung injury from oxygen in lambs: The role of artificial ventilation
Anaesthesiology 30, 609-618 (1969)
33. Demling, R.H.
The pathogenesis of respiratory failure after trauma and sepsis
Surg. Clin. No. Amer. 60, 1373-1390 (1980)

34. Derks, C.M.; Peters, R.M.;
The role of shock and fat embolus in leakage from
pulmonary capillaries
Surg. Gyn. Obst. 137, 945-948 (1975)
35. Dumas, B.T.; Watson, W.A.; Biggs, H.G.;
Albumin standards and measurement of serum albumin with
bromocresol green
Clin. Chim. Acta 31, 87-96 (1971)
36. Dumesnil, R.; Schadewaldt, H.;
Die berühmten Ärzte, 2. Aufl.
Aulis Verlag, Köln (1968)
37. Eaton, R.M.;
Pulmonary edema
J. Thorac. Surg. 16, 668- 673 (1947)
38. Epstein, E.H.; Scott, R.D.; Miller, E.J.; Piez, K.A.;
Isolation and characterization of the peptides derived from
human and baboon skin collagen after cyanogen bromide cleav.
J. Biol. Chem. 246, 1718-1724 (1971)
39. Evans, M.J.; Cabral, L.J.; Stephens, R.J.; Freeman, G.;
Renewal of alveolar epithelium in the rat following ex-
posure to NO₂
Am. J. Path. 70, 175- 198 (1973)
40. Fishman, A.P.;
Shock lung - a distinctive entity
Circ. 47, 921-923 (1973)
41. Fulmer, J.D.; Bienkowski, R.S.; Cowan, M.J.; Bradley, K.H.;
Roberts, W.C.; Crystal, R.G.;
Comparison of collagen concentration, distribution and
synthesis in fibrotic and normal lungs
Clin. Res 24, 384A (1976)

42. Fulmer, J.D.; Bienkowski, R.S.; Cowan, M.J.; Breul, S.D.;
Bradley, K.H.; Ferrans, V.J.; Roberts, W.C.; Crystal, R.G.;
Collagen concentration and rates of synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis
Am. Rev. Resp. Dis. 122, 289-301 (1980)
43. Ganong, W.F.;
Medizinische Physiologie, 2. Aufl.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1972)
44. Gay, S.; Miller, E.J.;
Collagen in the physiology and pathology of connective tissue
G. Fischer Verlag, Stuttgart-New York (1978)
45. Gersmeyer, E.F.; Yasargil, E.C.;
Schock und hypotone Kreislaufstörungen, 2.Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart (1978)
46. Gould, V.E ; Tosco, R.; Wheels, R.F.; Gould, N.S.; Kapanci, Y.;
Oxygen pneumonitis in man
Lab. Invest. 26, 499-508 (1972)
47. Grönwall, A.; Ingelman, R.;
Dextran as a substitute for plasma
Nature 155, 45 (1945)
48. Gump, F.E.; Mashim, Y.; Ferenczy, A.; Kinney, J.M.;
Pre- and postmortem studies on lung fluids and electrolytes
J. Trauma 11, 474-482 (1971)
49. Gustafsson, J.E.C.;
Improved specificity of serum albumin determination and estimation of "acute phase protein" by use of the brom-cresol green reaction
Clin. Chem. 22, 616-622 (1976)

50. Guyton, A.C.;
Textbook of medical physiology, 6.Aufl.
W.B. Saunders, Philadelphia-London-Toronto (1981)
51. Haberling, W.; Hübötter, F.; Vierodt, H.;
Biographisches Lexikon der hervorragenden Ärzte aller
Zeiten und Völker, 2.Aufl., Bd. III
Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien (1931)
52. Hance, A.J.; Crystal, R.G.;
The connective tissue of lung
Am. Rev. Rep. Dis. 112, 657-711 (1975)
53. Hance, A.J.; Horwitz, A.L.; Cowan, M.J.; Elson, N.A.; Collins,
J.F.; Bienkowski, R.S.; Bradley, K.H.; McConnell-Breul, S.;
Wagner, W.M.; Crystal, R.G.;
Biochemical approaches to the investigation of fibrotic
lung disease
Chest 69, 257-261 (1976)
54. Hassenstein, J.; Riede, U.N.; Mittermayer, C.; Sandritter, W.;
Zur Frage der Reversibilität der schockinduzierten Lungen-
fibrose
Anästh. Intensivther. Notfallmed. 15, 340-349 (1980)
55. Hill, K.;
Zur Pathomorphologie der posttraumatischen pulmonalen
Insuffizienz
Anästhesist 19, 332-340 (1970)
56. Hippokrates
Corpus hipocratum, Epidemien, Buch I-III
in: Capelle, W.
Hippokrates - 5 auserlesene Schriften
Fischer Verlag, Frankfurt (1955)
57. Hoffman
zit. nach Kopsch (68)

58. Hollstein, L.;
Lehrbuch der Anatomie des Menschen, 5. Aufl.
E.H. Schröder, Berlin (1873)
59. Homer
Ilias und Odyssee, Übersetzung von J.H. Voss
Birkhäuser, Basel (1953)
60. Horwitz, A.L.; Crystal, R.G.;
Collagenase from rabbit pulmonary alveolar macrophages
Biochem. Biophys. Res. Comm. 69, 296-303 (1976)
61. Jenkins, M.T.; Jones, R.F.; Wilson, B.; Moyer, C.A.;
Congestive atelectasis - a complication of the intravenous
infusion of fluids
Ann. Surg. 132, 327- 347 (1950)
62. Joachim, H.; Riede, U.N.; Mittermayer, C.;
The weight of human lungs as a diagnostic criterium
Path. Res. Pract. 162, 24-40 (1978)
63. Jochum, M.; Duswald, K.H.; Ditter, H.; Fritz, H.;
Elastase a_1 -Proteinaseinhibitor-Komplex: ein Indikator
für pathobiochemische Veränderungen in der Sepsis und nach
Polytrauma
Lab. med. 7, 121 (1983)
64. Johnson, R.L.; Ziff, M.;
Lymphokine stimulation of collagen accumulation
J. Clin. Invest. 58, 240-252 (1976)
65. Johnson, J.R.; Andrews, F.A.;
Lung scleroproteins in age and emphysema
Chest 57, 239-244 (1970)
66. Kehrer, J.P.; Witschi, H.;
In vivo collagen accumulation in an experimental model of
pulmonary fibrosis
Exp. Lung Res. 1, 259-270 (1980)

67. Konomi, H.; Hori, H.; Sano, J.; Samada, H.; Hata, R.; Fujiwara, S.; Nagai, Y.;
Immunohistochemical localization of type I, II, III and IV collagens in the lung
Acta pathol. Jpn. 31, 601-610 (1981)
68. Kopsch, F.;
Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen
Bd. II, Eingeweide, Nervensystem, Sinnesorgane, 19.Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart (1955)
69. Kravis, T.C.; Ahmed, A.; Brown, T.E.; Fulmer, J.D.; Crystal, RG;
Pathogenic mechanisms in pulmonary fibrosis
J. Clin. Invest. 58, 1223-1232 (1976)
70. Krieg, T.; Kühn, K.;
Biochemie des Kollagens, S. 164-174
in: Groher, W.; Noack, W.;
Sportliche Belastungsfähigkeit des Haltungs- und Bewegungsapparates
Thieme Verlag, Stuttgart-New York (1982)
71. Laemmli, U.K.;
Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4
Nature 227, 680-685 (1970)
72. Lamy, M.; Fallat, R.J.; Koeniger, E.; Dietrich, H.P.; Eberhard, R.C.; Tucker, H.J.; Hill, J.D.;
Pathologic features and mechanisms of hypoxemia in adult respiratory distress syndrome
Am. Rev. Resp. Dis. 114, 267-284 (1976)
73. Lansing, A.I.; Rosenthal, T.B.; Alex, M.; Dempsey, E.W.;
The structure and chemical characterization of elastic fibers as revealed by elastase and by electron microscopy
Anat. Rec. 114, 555-575 (1952)

74. Laurent, G.J.; McAnulty, R.J.; Corrin, B.; Cockerill, P.;
Biochemical and histological changes in pulmonary fibrosis
induced in rabbits with intratracheal bleomycin
Eur. J. Clin. Invest. 11, 441-448 (1981)
75. Laver, M.B.; Hallowell, P.; Goldblatt, A.;
Pulmonary dysfunction secondary to heart disease: aspects
relevant to anaesthesia and surgery
Anaesthesiology 33, 161-192 (1970)
76. LeDran, H.F.;
Traité ou reflexions tirées de la pratique sur les playes
d'armes à feu
Amsterdam (1741)
77. Lewis, F.R.; Elings, V.B.; Sturm, J.A.;
Bedside measurement of lung water
J. Surg. Res. 27, 250-261 (1979)
78. Low, F.N.; Forks, G.;
Extracellular components of the pulmonary alveolar wall
Arch. Intern. Med. 127, 847-852 (1971)
79. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L.; Randall, R.J.;
Protein measurement with the folin phenol reagent
J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951)
80. Mac Lean, L.D.;
Shock: Causes and management of circulatory collapse
in: Sabiston, D.C.;
Textbook of surgery, 11. Aufl.
W.B. Saunders, Philadelphia-London-Toronto (1977)
81. Madri, J.A.; Furthmayer, H.;
Isolation and tissue localization of type AB₂ collagen
from normal lung parenchyma
Am. J. Path. 94, 323-330 (1979)

82. Madri, J.A.; Furthmayer, H.;
Collagen polymorphism in the lung
Human Path. 11, 353-366 (1980)
83. Magus-Levy, A.;
Über den Gehalt normaler menschlicher Organe an Chlor,
Kalzium, Magnesium und Eisen sowie an Wasser, Eiweiß und
Fett
Biochem. Z. 24, 363-380 (1940)
84. Mancini, G.; Carbonara, A.D.; Heremans, J.F.;
Immunochemical quantitation of antigens by single radial
immunodiffusion
Immunochemistry 2, 235-254 (1965)
85. Martin, A.M.; Soloway, H.B.; Simmonds, R.L.;
Pathologic anatomy of the lungs following shock and trauma
J. Trauma 8, 687-698 (1968)
86. McCullough, B.; Collins, J.F.; Johanson, W.G.; Grover, F.L.;
Bleomycin-induced diffuse interstitial pulmonary fibrosis
in baboons
J. Clin. Invest. 61, 79-88 (1978)
87. McLees, B.D.; Schleiter, G.; Pinnell, S.R.;
Isolation of type III collagen from human adult parenchymal
lung tissue
Biochem. 16, 185-190 (1977)
88. Mecham, R.P.;
Elastin biosynthesis: a look at the current scene
Conn. Tiss. Res. 8, 155-160 (1981)
89. Meigel, W.N.; Müller, P.K.;
Kollagenkrankheiten
Med. Klin. 70, 1255-1264 (1975)

90. Mellmann, J.; Trentz, O.A.; Hempelmann, G.; Stender, G.; Oestern, H.J.; Trentz, O.;
Röntgenologische Lungenveränderungen beim polytraumatisierten Patienten
Unfallchir. 7, 122-128 (1981)
91. Miller, E.J.;
Isolation and characterization of a collagen from chick cartilage containing 3 identical chains
Biochem. 10, 1652-1658 (1971)
92. Mitchell, R.A.; Berger, A.J.;
Neural regulation of respiration
Am. Rev. Resp. Dis. 111, 206- 224 (1975)
93. Mittermayer, C.; Vogel, W.; Burchardi, H.; Birzle, H.; Wiemers, K.; Sandritter, W.;
Pulmonale Mikrothrombosierung als Ursache der respiratorischen Insuffizienz bei Verbrauchskoagulopathie
Dt. Med. Wschr. 95, 1999-2002 (1970)
94. Mittermayer, C.; Hagedorn, M.; Böttcher, D.; Vogel, W.; Neuhof, U.; Mittermayer, U.;
Bromcarbamidvergiftung, ein Modell der Schocklunge
Klin. Wschr. 50, 467-470 (1972)
95. Mittermayer, C.; Thomas, C.; Rengholt, R.; Schäfer, W.; Vogel, W.; Martinez, G.; Sandritter, W.;
Über den Gestaltswandel des Schocksyndroms innerhalb zweier Jahrzehnte
Klin. Wschr. 51, 37-38 (1973)
96. Mittermayer, C.;
Pathologie der Schocklunge
Verh. Dt. Ges. Inn. Med. 81, 437-443 (1975)

97. Mittermayer, C.; Ostendorf, P.; Riede, U.N.;
Pathologisch-anatomische Untersuchung bei der respiratori-
schen Insuffizienz durch Schock. I. Lichtmikroskopische und
biochemische Analyse
Intensivmed. 14, 252-262 (1977)
98. Mittermayer, C.; Hassenstein, J.; Riede, U.N.;
Is shock induced lung fibrosis reversible ? A report on
recovery from shock lung
Path. Res. Pract. 162, 73-87 (1978)
99. Mittermayer, C.; Riede, U.N.; McEwan, J.R.;
Pathologisch-anatomische Untersuchungen der Schocklunge :
II. Spätschäden und Irreversibilität
in: Mayerhofer-Krammel, Schlag, Stoeckel
Akutes progressives Lungenversagen, INA Bd. 16
Thieme Verlag, Stuttgart (1979)
100. Moon, V.H.;
Shock, its dynamics, occurrence and management
Lea and Febiger, Philadelphia (1942)
101. Moore, F.D.; Lyons, J.H.; Pierce, E.C.; Morgan, A.P.;
Drinker, P.A.; MacArthur, J.D.; Dammin, G.J.;
Post-traumatic pulmonary insufficiency
W.B. Saunders, Philadelphia (1969)
102. Moss, G.S.; Saletta, J.D.;
Traumatic shock in man
New Engl. J. Med. 290, 724-726 (1974)
103. Müller, P.K.; Kühn, K.;
Alterungsvorgänge im Kollagen
Verh. Dt. Ges. Path. 59, 27-34 (1975)
104. Nahmias, B.B.; Churchwell, A.G.; Bowles, F.N.;
Diffuse interstitial pulmonary fibrosis (Hamman-Rich-Syn-
drome)
Am. J. Med. 31, 154-162 (1961)

105. Naum, Y.; Morgan, T.E.;
A microassay for elastin
Anal. Biochem. 53, 392-396 (1973)
106. Neuman, R.E.; Logan, M.A.;
The determination of hydroxyproline
J. Biol. Chem. 184, 299-305 (1951)
107. Ogur, M.; Rosen, G.;
The nucleic acids of plant tissue. I. The extraction and
estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose
nucleic acid
Arch. Biochem. 25, 262-276 (1959)
108. Orell, S.R.;
Lung pathology in respiratory distress following a shock
in the adult
Acta path. microbiol. scand. A 79, 65-76 (1971)
109. Ostendorf, P.; Birzle, H.; Vogel, W.; Mittermayer, C.;
Pulmonary radiographic abnormalities in shock
Radiology 115, 257-263 (1975)
110. Paré, A.;
zit. nach Gersmeyer und Yasargil (45)
111. Pearce, M.L.; Yamashita, J.; Beazell, J.;
Measurement of pulmonary edema
Circ. Res. 16, 482-488 (1965)
112. Pecora, L.J.; Manne, R.; Baum, G.L.; Feldman, D.P.;
Recavarren, S.;
Biochemical study of ground substance in normal and
emphysematous lung
Am. Rev. Resp. Dis. 95, 623-638 (1967)
113. Pickrell, J.A.; Shafer, J.;
Lung connective tissue measurements
Arch. Intern. Med. 127, 891-895 (1971)

114. Pierce, J.A.; Hocott, J.B.; Ebert, R.V.;
Studies of lung collagen and elastin
Am. Rev. Resp. Dis. 80, 45-48 (1959)
115. Pierce, J.A.; Hocott, J.B.;
Studies on the collagen and elastin content of the
human lung
J. Clin. Invest. 39, 8-14 (1960)
116. Pierce, J.A.; Hocott, J.B.; Ebert, R.V.;
The collagen and elastin content of the lung in em-
physema
Ann. Intern. Med. 55, 210-222 (1961)
117. Pierce, J.A.; Ebert, R.V.;
Fibrous network of the lung and its **change with age**
Thorax 20, 469-476 (1965)
118. Pietra, G.G.; Szidon, J.P.; Leventhal, M.M.; Fishman, A.P.;
Hemoglobin as a tracer in hemodynamic pulmonary edema
Science 166, 1643-1646 (1969)
119. Pietra, G.G.; Rüttner, J.R.; Wüst, W.; Glinz, W.;
The lung after trauma and shock - **Fine structure of the**
alveolar-capillary barrier in 23 autopsies
J. Trauma 21, 454-462 (1981)
120. Piez, K.A.:
Molecular weight determination of random coil poly-
peptides from collagen by molecular sieve chromatography
Anal. Biochem. 26, 305-312 (1968)
121. Pingleton, W.W.; Coalson, J.J.; Hinshaw, L.B.; Guenter, C.A.;
Effects of steroid pretreatment on development of shock
lung
Lab. Invest. 27, 445-456 (1972)

122. Pontopiddan, H.; Geffin, B.; Lowenstain, E.;
Acute respiratory failure in the adult
New Engl. J. Med. 287, 690-698, 743-752, 799-806 (1972)
123. Porte, A.; Stoeckel, M.E.; Mantz, J.M.; Tempe, J.D.; Jaeger, A.; Batzenschlager, A.;
Acute interstitial pulmonary fibrosis
Intens. Care Med. 4, 181-191 (1978)
124. Pratt, P.C.; Vollmer, R.T.; Shelburne, J.D.; Crapo, J.D.;
Pulmonary morphology in a multihospital collaborative extracorporeal membrane oxygenation project
Am. J. Path. 95, 191-209 (1979)
125. Pratt, P.C.;
Collagen concentration and rates of synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis
Am. Rev. Resp. Dis. 124, 473 (1981)
126. Ratliff, N.B.; Wilson, J.W.; Hackel, D.B.; Martin, A.M.;
The lung in hemorrhagic shock
Am. J. Path. 58, 353-361 (1970)
127. Reid,; Hutchinson,;
zit. nach Kopsch (68)
128. Reiser, K.M.; Last, J.A.;
Pulmonary fibrosis in experimental acute respiratory disease
Am. Rev. Resp. Dis. 123, 58-63 (1981)
129. Riecker, G.;
Einführung in das Thema: Schock
Internist 23, 417-424 (1982)

130. Riede, U.N.; Staubesand, J.;
A unifying concept for the role of matrix vesicles and
lysosomes in the formal pathogenesis of disease of con-
nective tissues and blood vessels
Beitr. Path. 160, 3-37 (1977)
131. Riede, U.N.; Mittermayer, C.; Friedburg, H.; Wybitul, K.;
Sandritter, W.;
Morphologic development of human shock lung
Path. Res. Pract. 165, 269-286 (1979)
132. Riede, U.N.; Mittermayer, C.;
Pathologisch-anatomische Untersuchung der Schocklunge:
I. Diagnostik und Abgrenzung der Frühstadien
in: Mayerhofer-Krammel, Schlag, Stoeckel, S. 16-21
Akutes progressives Lungenversagen, INA Bd. 16
Thieme Verlag, Stuttgart (1979)
133. Riede, U.N.; Mittermayer, C.; Horn, R.; Friedburg, H.;
Sandritter, W.;
Funktionelle Pathologie der menschlichen Schocklunge
Med. Welt 31, 491-501 (1980)
134. Riede, U.N.;
Pathogenesis of shock-induced pulmonary fibrosis in man
as a model of proliferative inflammation
in: Deicher,
Arthritis
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1981)
135. Riesner, K.;
Normale Anatomie der Erwachsenenlunge
Verh. Dt. Ges. Path. 62, 23-29 (1978)
136. Risteli, J.; Bächinger, H.P.; Engel, J.; Furthmayer, H.;
Timpl, R.;
7-S Collagen: Characterization of an unusual basement
membrane structure
Eur. J. Biochem. 108, 239-250 (1980)

137. Roka, L.;
Pathophysiologie der Schocklunge. Metabolische Aspekte
Verh. Dt. Ges. Path. 62, 117-126 (1978)
138. Rössle, R.; Roulet, F.;
Maß und Zahl in der Pathologie
Springer Verlag, Berlin-Wien (1932)
139. Sachs, L.;
Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag, Heidelberg-Berlin (1972)
140. Sandritter, W.; Thomas, C.;
Makropathologie, 4.Aufl.
Schattauer Verlag, Stuttgart-New York (1977)
141. Sandritter, W.; Mittermayer, C.; Riede, U.N.; Freudenberg,
N.; Grimm, H.;
Shock lung syndrome
Path. Res. Pract. 162, 7-23 (1978)
142. Schedel, R.; Lazarus, G.; Weis, K.H.;
Lungenfibrose nach ARDS
Anästhesist 31, 295-299 (1982)
143. Schirardin, H.; Ney, J.;
Eine vereinfachte Mikromethode zur Bestimmung von Serum-
albumin mit Hilfe von Bromkresolgrün
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 10, 338-344 (1972)
144. Schlag, G.; Voigt, W.H.; Schnells, G.; Glatzl, A.;
Die Ultrastruktur der menschlichen Lunge im Schock
Anästhesist 25, 512-521 (1976)
145. Schlag, G.; Redl, H.;
Neue Aspekte zur Schocklunge
Anästh. Intensivther. Notfallmed. 17, 86-91 (1982)

146. Schwiegk, H.;
Schock und Kollaps
Klin. Wschr. 21, 741-749 (1942)
147. Seyer, J.M.; Hutchinson, E.T.; Kang, A.H.;
Collagen polymorphism in idiopathic chronic pulmonary
fibrosis
J. Clin. Invest. 57, 1498-1507 (1976)
148. Siegenthaler, W.;
Klinische Pathophysiologie, 3. Aufl.
Thieme Verlag, Stuttgart (1976)
149. Singer, C.; Ashworth-Underwood, E.;
A short history of medicine
Atthe Clarendon Press, Oxford (1962)
150. Sobin, S.S.; Bernick, S.; Tremer, H.M.; Rosenquist, T.H.;
Lindal, R.; Fung, Y.C.;
The fibroprotein network of the pulmonary interalveolar
wall
Chest 65, 4S-5S (1974)
151. Spitzka, E.A.;
A note on the true weight of the human lung
Am. J. Anat. 3, V (1904)
152. Staub, N.C.;
Pulmonary edema
Physiol. Rev. 54, 678-811 (1974)
153. Steinbereithner, K.;
Die Lunge im Schock
Zbl. Chir. 101, 65-76 (1976)
154. Stowens, D.;
Pediatric pathology, 2. Aufl.
Williams and Wilkins Co., Baltimore (1966)

155. Sturm, J.A.; Lewis, F.R.; Trentz, O.; Oestern, H.J.;
Hempelmann, G.; Tscherne, H.;
Cardiopulmonary parameters and prognosis after severe
multiple trauma
J. Trauma 19, 305-316 (1979)
156. Sturm, J.A.; Oestern, H.J.; Maghsudi, M.; Pfiffer, O.;
Joachim, H.;
Die gravimetrische Überprüfung der klinischen Lungen-
wassermessung (Thermo-Green-Dye)
Langenbecks Arch Chir., Chir. Forum 49-53 (1982)
157. Tanzer, M.L.;
Crosslinking
in: Ramachandran, G.N.; Reddi, A.H.; S. 137-162
Biochemistry of collagen
Plenum Press, New York (1976)
158. Tierney, D.F.;
Intermediary metabolism of the lung
Fed. Proc. 33, 2232-2237 (1974)
159. Tolstoshev, P.; Berg, R.A.; Rennard, S.I.; Bradley, K.H.;
Trapnell, B.C.; Crystal, R.G.;
Procollagen production and procollagen messenger RNA level
and activity in human lung fibroblasts during periods of
rapid and stationary growth
J. Biol. Chem. 256, 3135-3140 (1981)
160. Trunkey, D.D.;
Overview of trauma
Surg. Clin. No. Am. 62, 3-7 (1982)
161. Uitto, J.;
Biochemistry of the elastic fibers in normal connective
tissues and its alterations in disease
J. Invest. Derm. 72, 1-10 (1979)

162. van Kampen, E.J.; Zijlstra, W.G.;
Standardization of hemoglobinometry. II. The hemoglobin-
cyanide method
Clin. Chim. Acta 6, 538-544 (1961)
163. von Wichert, P.;
Alveolarwandphysiologie und Surfactant
Verh. Dt. Ges. Path. 62, 29-34 (1978)
164. von Wichert, P.;
Die Schocklunge
Med. Klin. 74, 1-8 (1979)
165. Walker, L.; Eiseman, B.;
The changing pattern of posttraumatic respiratory distress
syndrome
Ann. Surg. 181, 693-697 (1975)
166. Warwick, R.; Williams, P.I.;
Gray's anatomy
Longman, London (1973)
167. Weber, L.; Meigel, W.N.; Spier, W.;
Collagen polymorphism in pathologic human scars
Arch. Derm. Res. 261, 63-71 (1978)
168. Webster, D.;
The immediate reaction between bromocresol green and
serum as a measure of the albumin content
Clin. Chem. 23, 663-665 (1977)
169. Weibel, E.R.;
Morphometrische Analyse von Zahl, Volumen und Oberfläche
der Alveolen und Kapillaren der menschlichen Lunge
Z. Zellforsch. 57, 648-654 (1962)

170. Weibel, E.R.; Gil, J.;
Electron microscopic demonstration of an extracellular
duplex lining of alveoli
Resp. Physiol. 4, 42- 57 (1968)
171. Weibel, E.R.;
Morphological basis of alveolar capillary gas exchange
Physiol. Rev. 53, 419- 495 (1973)
172. Weibel, E.R.;
A note on differentiation and diversibility of alveolar
epithelial cells
Chest 65, 19S-21S(1974)
173. Westgard, J.O.; Poquette, M.A.;
Determination of serum albumin with the "SMA 12/60" by a
bromocresol green dye-binding method
Clin. Chem. 18, 647-653 (1972)
174. Whimster, W.G.; MacFaryane, A.J.;
Normal lung weights in a white population
Am. Rev. Resp. Dis. 110, 478-483 (1974)
175. Wick, G.; Traill, K.N.; Schauenstein, K.;
Immunofluorescence technology
Elsevier Biomed. Press, Amsterdam-New York-Oxford (1982)
176. Zapol, W.M.; Trelstad, R.L.; Coffey, J.W.; Tsai, I.;
Salvador, R.A.;
Pulmonary fibrosis in severe acute pulmonary fibrosis
Am. Rev. Resp. Dis. 119, 547-554 (1979)
177. Zschoch, H.; Klemm, P.G.;
Die Bewertung von Organgewichten mit multiplen Regressions-
gleichungen
Zbl. allg. Path. 119, 213-220 (1975)

Dank

Die vorliegende Arbeit wurde am Max-Planck Institut für Biochemie in Martinsried bei München in der Abteilung für Bindegewebsforschung durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. K. Kühn und

Herrn Prof. Dr. K. Hannig

danke ich für das Interesse, ihre Unterstützung und die wohlwollende Förderung der Arbeit.

Herrn Dr. P. K. Müller

danke ich besonders für die Betreuung, seine zahlreichen Ratschläge und wertvollen Diskussionen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. J. A. Sturm und

Herrn Dr. med. M. Nerlich

von der Unfallchirurgischen Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover (Direktor: Prof. Dr. H. Tscherne), sowie

Herrn Prof. Dr. J. Joachim

vom Institut für Rechtsmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover (Direktor: Prof. Dr. Zink) gilt mein besonderer Dank für die freundliche Zuverfügungstellung des Untersuchungsmaterials sowie die Überlassung klinischer und histologischer Daten.

Herrn Prof. Dr. Dr. W. Neupert

vom Physiologisch Chemischen Instituts der Universität München danke ich für die Übernahme des Coreferats.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises möchte ich für wertvolle Diskussion und Kritik danken.

Lebenslauf

geboren am 1.12.1957 in Landshut/Bay. als zweiter Sohn von
Dr. med. Georg Nerlich, Facharzt für Chirurgie,
und seiner Ehefrau Magdalena, geb. Vandieken;

Familienstand: verheiratet mit Maria Nerlich, geb. Hirmer;
Tochter Susanne, geb. 1.7.1983;

Schulbildung: 1964 - 1968 Volksschule Zwiesel
1968 - 1977 Gymnasium Zwiesel, neusprachlicher
Zweig
Juni 1977 Reifeprüfung

Hochschulausbildung: vom Wintersemester 1977/78 bis zum
Wintersemester 1983/84 Studium der Humanmedizin
an der Ludwig-Maximilians Universität, München;

Aug. 1979 Ärztliche Vorprüfung

Aug. 1980 I. Teil der Ärztlichen Prüfung

Aug. 1982 II. Teil der Ärztlichen Prüfung

Okt. 1983 III. Teil der Ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr:

I. Medizinische Klinik im Klinikum Großhadern,
München (Direktor: Prof. Dr. Rieker);

Chirurgische Abteilung des Städt. Krankenhauses,
Rosenheim (Direktor: Prof. Dr. Hofmann);

I. Frauenklinik der Universität, München;
(Direktor: Prof. Dr. Zander);

Approbation als Arzt: am 3. Nov. 1983;

